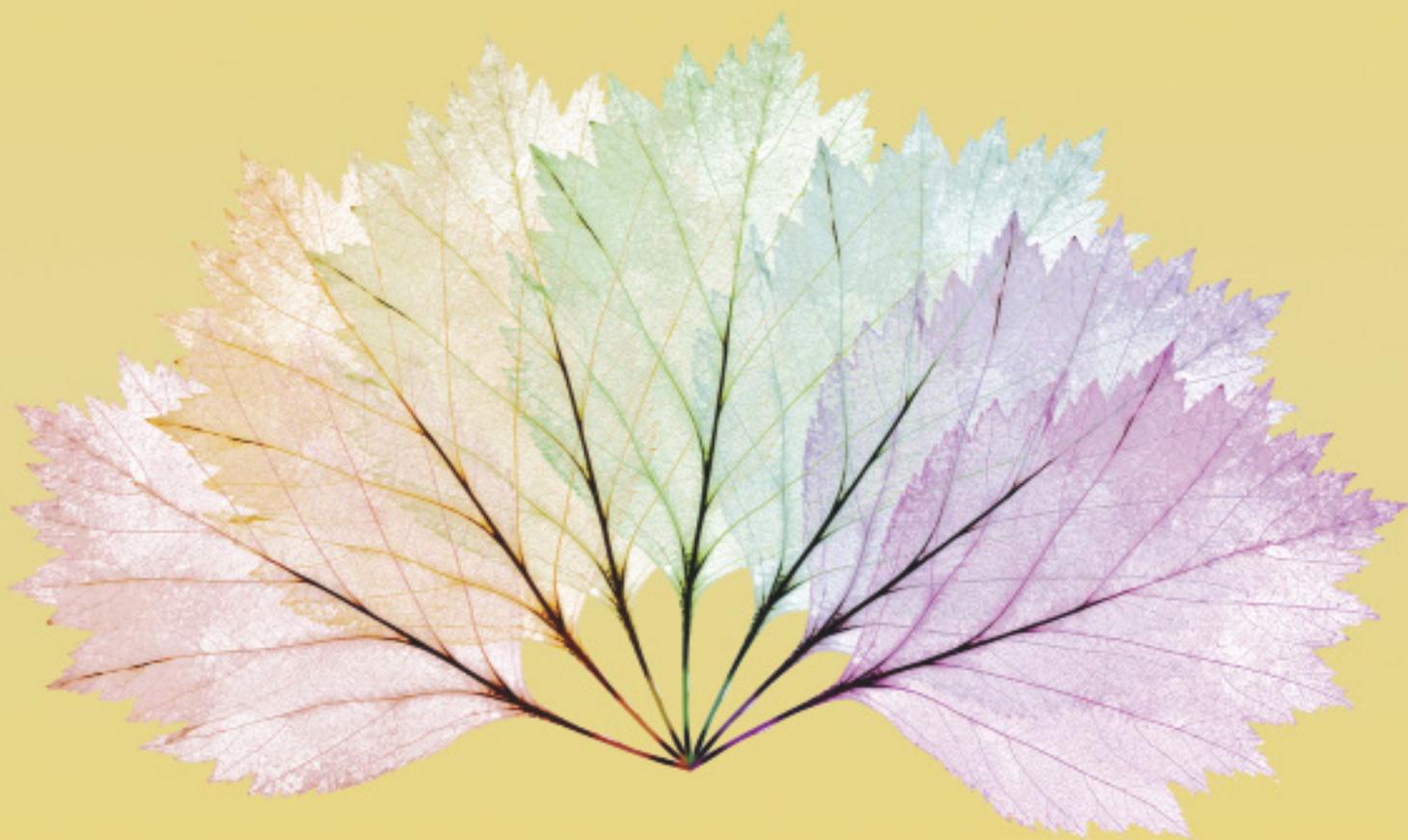


BEPA

Boletim Epidemiológico Paulista

ISSN 1806-423-X • ISSN 1806-4272 - Online



CCD
COORDENADORIA DE
CONTROLE DE DOENÇAS


SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO

| Secretaria de Saúde

BEPA

Boletim Epidemiológico Paulista

EXPEDIENTE

Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa)

Coordenadoria de Controle de Doenças - CCD/SES-SP

Submissões

<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/BEPA182/about/submissions>

Os artigos publicados são de responsabilidade dos autores.

Direitos autorais

Os direitos autorais referentes aos manuscritos aprovados para publicação no Boletim Epidemiológico Paulista são propriedade exclusiva da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, sendo possível sua reprodução, total ou parcial, em qualquer outro meio de divulgação, impresso ou eletrônico, desde que citada a fonte, conferindo os devidos créditos ao Boletim Epidemiológico Paulista.

Editores-Geral

Regiane Cardoso de Paula

Editores-Executiva

Edlaine Faria de Moura Villela

Editores Associados

Adriana Bugno/IAL/CCD/SES-SP

Alexandre Gonçalves - CRT/DST/Aids/CCD/SES-SP

Marcos Boulos - Sucen/SES-SP

Lilian Nunes Schiavon - CTD/CCD/SES-SP

Luciana Hardt - IP/CCD/SES-SP

Maria Cristina Megid - CVS/CCD/SES-SP

Tatiana Lang D'Agostini - CVE/CCD/SES-SP

Comitê Editorial

Angela Tayra - CRT/Aids/CCD/SES-SP
Catia Martinez Minto - CIVS/CCD/SES-SP
Dalma da Silveira - CVS/CCD/SES-SP
Jéssica Pires de Camargo - CVE/CCD/SES-SP
Juliana Galera Castilho - IP/CCD/SES-SP
Marisa Lima Carvalho/IAL/CCD/SES-SP
Maria de Fátima Costa Pires - PPG/CCD/SES-SP
Rubens Antônio da Silva - Sucen/SES-SP

Coordenação Editorial

Rafael Montagnini

Revisão

Kátia Rocini
Michele Marim Mendes

Projeto gráfico/diagramação

Daniel Cherubim Pegoraro
Marcos Rosado

Direção do Centro de Documentação da CCD

Renan Matheus Predasoli

Consultores Científicos

Benedito Antônio Lopes da Fonseca - HCRB/USP-SP
Carlos M. C. Branco Fortaleza - FM/Unesp/Botucatu-SP
Celso Granato - EPM/MS
Clelia Aranda - Comissão Permanente de Assessoramento em Imunizações - CPAI/SP
Cristiano Corrêa de Azevedo Marques - Sucen/SES-SP
Eliseu Alves Waldman - FSP/USP-SP
Expedito José de Albuquerque Luna - IMT/USP-SP
Gerusa Figueiredo - IMT/USP-SP
Gonzalo Vecina Neto - FSP-USP
José Angelo Lindoso - IIER/SES-SP
José Cássio de Moraes - FCM/SC-SP
José da Rocha Carvalheiro - USP e Inst. Saúde

José da Silva Guedes - SC/SP

Marcelo Bahia Labruna - FMVZ/USP-SP

Marcos Boulos - FMUSP/SP

Marcos da Cunha Lopes Virmond - ILSL/SES-SP

Marcos Vinícius da Silva - IIER/SES-SP

Ricardo Kerti Mangabeira Albernaz - CCD/SES-SP

Rodrigo Nogueira Angerami - HC/Unicamp-SP

Vilma Pinheiro Gawyszewsk - Opas

Equipe do Portal de Revistas Científicas da SES-SP:

Lilian Nunes Schiavon

Eliete Candida de Lima Cortez

Renan Mateus Predasoli

Disponível em:

Portal de Revistas Saúde SP

<http://ses.sp.bvs.br/periodicosp>

Coordenadoria de Controle de Doenças

<https://www.saude.sp.gov.br/coordenadoria-de-controle-de-doencas/>

Av. Dr Arnaldo, 351. 1º andar - sala 124

Centro de Produção e Divulgação Científica

CEP: 01246-000 – Pacaembu. São Paulo/SP – Brasil

Tel.: 55 11 3066-8823/8825

O Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) foi criado em 2004. É uma publicação mensal, da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), órgão da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), responsável pelo planejamento e execução das ações de promoção à saúde e prevenção de quaisquer riscos, agravos e doenças, nas diversas áreas de abrangência do Sistema Único de Saúde de São Paulo (SUS-SP).

Missão

O BEPA tem o objetivo de documentar e divulgar trabalhos relacionados à vigilância em saúde, de maneira ágil, estabelecendo um canal de comunicação entre as diversas áreas técnicas e instâncias do SUS-SP. Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde, o Boletim propõe o incentivo à produção de trabalhos técnico-científicos desenvolvidos no âmbito da rede de saúde. Nesse sentido, proporciona a atualização e o aprimoramento dos profissionais e das instituições responsáveis pelos processos de prevenção e controle de doenças, das esferas pública e privada.

SUMÁRIO

9	O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19: Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2 <i>The Instituto Adolfo Lutz in the COVID-19 pandemic: Experience in molecular diagnosis and surveillance of SARS-CoV-2</i>
39	Segregação espacial de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>, estado de São Paulo, Brasil <i>Spatial segregation of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i>, São Paulo state, Brazil</i>
57	As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo* <i>Integrative and Complementary Practices in Health standing out in the Health Promotion scenario in the State of São Paulo</i>
69	Meningites Bacterianas: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos <i>Bacterial Meningitis: Diagnosis and Laboratory Characterization of the Etiological Agents</i>
87	Difteria: atualização das orientações de prevenção e controle <i>Diphtheria: an update of the prevention and control measures</i>
96	Estudo comparativo entre as técnicas de imunofluorescência direta, isolamento viral em camundongos e isolamento viral em cultivo celular utilizadas no diagnóstico da raiva <i>Comparative study among direct fluorescent antibody, mouse inoculation test and rabies tissue culture infection test used in rabies diagnosis</i>
99	Resposta à pandemia de COVID-19 no estado de São Paulo <i>Response to the COVID-19 pandemic in the state of São Paulo</i>
101	Instrução aos autores <i>Instruction to authors</i>

Artigo original

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19: Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2

The Instituto Adolfo Lutz in the COVID-19 pandemic: Experience in molecular diagnosis and surveillance of SARS-CoV-2

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil

*Spatial segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, São Paulo state, Brazil*

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19: Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2

The Instituto Adolfo Lutz in the COVID-19 pandemic: Experience in molecular diagnosis and surveillance of SARS-CoV-2

Adele Caterino-de-Araujo  <https://orcid.org/0000-0003-0155-6580>

Centro de Imunologia. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Este trabalho descreve os ensaios de rotina e as pesquisas realizadas no Instituto Adolfo Lutz (IAL), durante a pandemia de COVID-19, relacionadas ao diagnóstico molecular da *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). É apresentada a partícula viral, seu genoma e os ensaios e kits utilizados durante o período, contextualizando seu uso e apontando os de melhor desempenho e custo-efetividade. Ademais, destaca as pesquisas relacionadas à utilização de material biológico obtido de gargarejo, saliva, urina e tecidos. Por meio de sequenciamento de nova geração, descreve as variantes virais encontradas no estado de São Paulo e depositadas no *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID) ao longo do tempo, dando ênfase às variantes de interesse (*variant of interest*, VOI) e de atenção (*variant of concern*, VOC). Apresenta estudos sobre: técnica de sequenciamento SANGER da região *S* (*spike*) do genoma viral, útil na triagem de VOI e VOC; predição de estrutura terciária, estabilidade e flexibilidade da proteína, com ênfase à região de ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira na variante P.1; e casos de possível “falha vacinal” relacionados à idade, tipo/local de trabalho e de residência, e a variante viral infectante. Além disso, menciona e discute os Boletins de Monitoramento de SARS-CoV-2, Vigilância Epigenômica, emitidos regularmente pela Instituição, onde é possível acompanhar o surgimento de variantes virais identificadas em cada um dos 17 Departamentos Regionais de Saúde do estado de São Paulo. Por fim, apresenta a relação das pessoas envolvidas direta ou indiretamente na força-tarefa COVID-19 do IAL.

PALAVRAS-CHAVE: *Coronavirus disease 2019* (COVID-19). COVID-19, Diagnóstico. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). Infecção por SARS-CoV-2. Teste RT-PCR para SARS-CoV-2. SARS-CoV-2, Vigilância.

ABSTRACT

This paper describes the routine trials and research carried out at the Instituto Adolfo Lutz (IAL), during the COVID-19 pandemic, related to the molecular diagnosis of *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). The viral particle, its genome and the assays and kits used during the period are presented, contextualizing its use and pointing out those with the best performance and cost-effectiveness. Furthermore, highlights the researches related to the use of biological material obtained from throat wash, saliva, urine and tissues. Through next-generation sequencing, describes the viral variants found in the state of São Paulo and deposited in the Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) over time, emphasizing the variants of interest (VOI) and of concern (VOC). It presents studies on: SANGER sequencing technique of the S (spike) region of the viral genome, useful in VOI and VOC screening; the tertiary structure, molecular stability, and flexibility of S protein, with emphasis on the receptor-binding region of the P.1 variant; cases of possible “vaccination failure” related to age, type/place of work and residence, and the infectious viral variant. In addition, mentions and discusses the SARS-CoV-2 Monitoring Bulletins, Epigenomic Surveillance, regularly issued by the Institution, where it is possible to monitor the emergence of viral variants identified in each of the 17 Regional Departments of Health of the state of São Paulo. Finally, presents the list of people directly or indirectly involved in IAL’s COVID-19 task force.

KEYWORDS: *Coronavirus disease 2019* (COVID-19). COVID-19, Diagnosis. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 infection. SARS-CoV-2 RT-PCR testing. SARS-CoV-2, Surveillance.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia

No período de dezembro de 2019 a janeiro de 2020, foi detectado um surto de pneumonia grave em trabalhadores de um mercado de peixes na cidade de Wuhan, Província de Hubei, China,¹ cujo agente etiológico foi rapidamente identificado (07 de janeiro de 2020) como sendo um novo Coronavírus,² diferente daqueles que causaram a síndrome respiratória aguda grave por Coronavírus (*Severe Acute Respiratory Syndrome*

Coronavirus, SARS-Cov) em 2003, e a síndrome respiratória do Oriente Médio (*Middle East Respiratory Syndrome*, MERS-CoV) em 2012.³ O novo Coronavírus foi denominado primeiramente *WH-Human 1 coronavirus* (WHCV) e/ou 2019n-CoV, e posteriormente, SARS-CoV-2, e a doença *Coronavirus disease 2019* (COVID-19).⁴

O SARS-CoV-2 propagou-se rapidamente por todo o mundo, e a doença por ele ocasionada mostrou ser de alta morbidade e mortalidade, o que conduziu a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*, WHO) a decretar, em 11 de março de 2020, a COVID-19, como sendo uma emergência mundial, uma pandemia.⁵

A partir da detecção dos primeiros casos de COVID-19, a WHO reportou em 11 de julho de 2021 mais de 186,4 milhões de casos confirmados de COVID-19 em todo o mundo, sendo mais de 19 milhões no Brasil (terceiro colocado no ranking mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América e Índia).⁶ Ao mesmo tempo, noticiou mais de 4 milhões de óbitos devido a COVID-19 no mundo, destacando o Brasil como o segundo colocado no ranking mundial, com mais de 532 mil óbitos.⁶

A situação se tornou mais preocupante quando se observou, no Brasil, um aumento assustador de casos de COVID-19 no final do ano de 2020 (denominada “segunda onda”), que coincidiu com o surgimento de uma nova variante viral de atenção (*variant of concern*, VOC) denominada de P.1, atualmente gamma.^{6,7} Esta variante viral vem sendo associada à maior transmissibilidade e carga viral, e à ocorrência de casos graves e fatais de COVID-19 em população de adultos jovens.^{8,9}

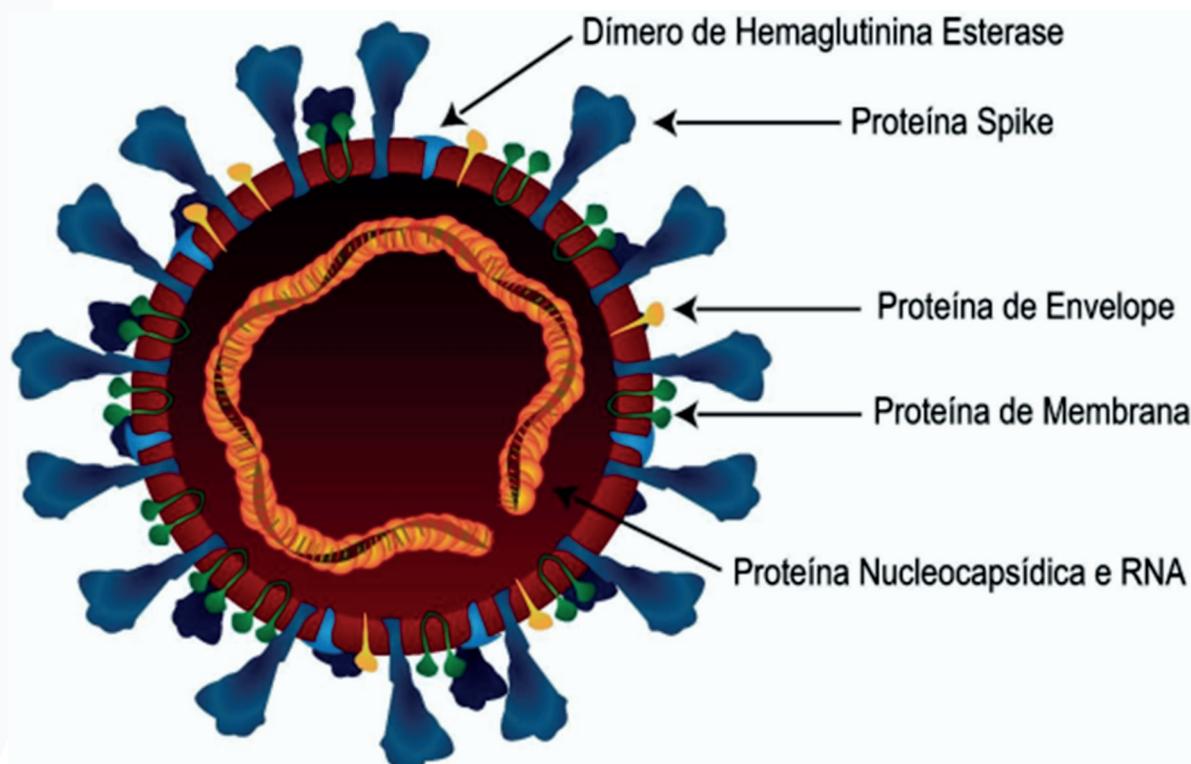
Em 11 de julho de 2021, o estado de São Paulo (com o maior número absoluto de infectados do país) registrou um total de 3.866.178 casos confirmados de COVID-19 e 132.140 óbitos, e a cidade de São Paulo, 1.305.365 casos de COVID-19 e 34.153 óbitos.^{10,11}

1.2. O VÍRUS E O DIGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial confirmatório na fase aguda da COVID-19 (início dos sintomas) se faz por meio da pesquisa de segmentos do genoma viral de SARS-CoV-2 em material coletado de casos suspeitos da doença [nasofaringe e/ou orofaringe (*nasopharyngeal and oropharyngeal samples*, NP/OP), lavado broncoalveolar, saliva, entre outros], utilizando a técnica de transcrição reversa (por se tratar de um vírus RNA) e posterior reação em cadeia da polimerase em tempo real ou quantitativa (*reverse transcription quantitative polymerase chain reaction*, RT-qPCR).

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

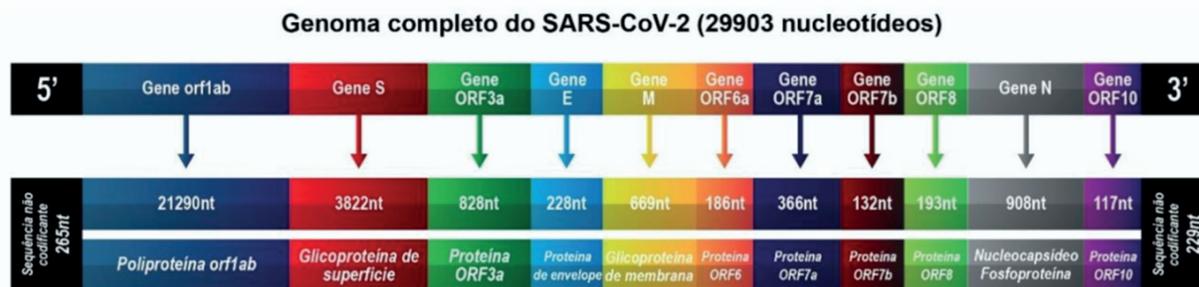
Para tanto, são pesquisados segmentos alvo do genoma viral (*targets*) que codificam regiões conservadas nos *Coronavirus* e específicas de SARS-CoV-2. Resumidamente, o SARS-CoV-2 é um vírus RNA de fita simples, polaridade positiva, envelopado, esférico e com espículas. Seu envelope consiste em uma camada bilipídica onde estão ancoradas as proteínas estruturais de envelope (E), membrana (M), e as espículas (S, *spikes*), além de uma proteína menor de superfície chamada hemaglutinina esterase (HE). A glicoproteína S é composta por duas subunidades funcionais S1 e S2, sendo a S1 responsável pela ligação do vírus às células do hospedeiro através de uma região denominada *receptor-binding domain* (RBD) que se liga ao receptor *angiotensin-converting enzyme 1* (ACE-1), e a S2, pela fusão. No interior do vírus há um nucleocapsídeo (N) que protege o RNA genômico (Figura 1).^{12,13}



Fonte: Costa et al, 2020.¹³

Figura 1. Estrutura da partícula viral de SARS-CoV-2.

O genoma de SARS-CoV-2 é de aproximadamente 30 Kb (quilo pares de base), onde na região 5' (mais de 21 Kb) se encontram as regiões abertas para leitura (*open reading frames, ORFs*), *ORF1a/b* que codificam poliproteínas não estruturais [proteases, polimerase (*RNA dependent RNA polymerase, RdRP*), helicase e endoribonuclease] e na região 3', os genes que codificam as proteínas estruturais S, E, M e N, e outras *ORFs* que codificam proteínas acessórias. O genoma do SARS-CoV-2 é ladeado pelas terminações não codificantes repetitivas (*units terminal repeats*) UTR 5' e UTR 3' (Figura 2).¹³



Fonte: Costa et al., 2020.13

Figura 2. Representação esquemática da estrutura genômica de SARS-CoV-2.

Logo após a descrição do genoma completo de SARS-CoV-2,² muitos protocolos de reação *in house* foram desenvolvidos e sintetizados iniciadores e sondas (*primers* e *probes*) para serem usados nas técnicas de RT-qPCR. Os primeiros protocolos descritos e disponibilizados pela WHO são apresentados na Tabela 1, ressaltando que todos empregavam a técnica de RT-qPCR no formato *single* (uma reação para a pesquisa de cada alvo), alguns empregavam como alvo os genes *E* e *N* comuns ao subgênero *Sarbecovirus* (SARS-CoV, SARS-CoV-2, e vírus relacionados detectados em morcegos), enfatizando que todos os protocolos não haviam sido validados pela WHO e datavam de janeiro de 2020 (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf>).

Tabela 1. Primeiros protocolos de RT-qPCR para detectar SARS-CoV-2, Instituições onde foram desenvolvidos e genes pesquisados.

Institutos	Genes alvo
China CDC, China	<i>ORF1ab, N</i>
Instituto Pasteur, Paris, França	Dois alvos em <i>RdRP</i>
US CDC, Atlanta, EUA	Três alvos em <i>N</i>
NIID, Japão	Múltiplos alvos de Pancoronavírus, <i>S (spike)</i>
Charité, Alemanha	<i>RdRP, E, N</i>
HKU, Hong Kong SAR	<i>ORF1b-nsp14, N</i>
NIH, Tailândia	<i>N</i>

Fonte: (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf>)

De destaque, esses protocolos sofreram alterações/atualizações e novas versões foram disponibilizadas. Os ensaios foram validados pelas agências responsáveis de seus respectivos países e de outras agências internacionais, e alguns se tornaram *kits* disponíveis no comércio. Por exemplo, no protocolo Charité-Berlin, que empregava como alvo os genes *E* e *N* (comuns aos *Sarbecovirus*) e o gene *RdRP* (específico de SARS-CoV-2), teve seu protocolo revisado, e retirada a pesquisa do gene *N*, mantendo-se apenas a *probe* P2 para detecção do gene *RdRP* (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>). Ainda, o protocolo do CDC-Atlanta, EUA, que pesquisava o gene *N*,

segmentos *N1*, *N2*, *N3* e o gene da RNaseP humana (*RP*) como controle interno de reação (*internal control*, *IC*), também sofreu várias alterações e melhorias, incluindo a retirada da pesquisa do segmento *N3*, a troca de alguns *primers* e a padronização da técnica em formato *multiplex* (pesquisa de vários alvos em uma única reação de RT-PCR). Este *kit* encontra-se disponível no comércio (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>), assim como *kits* utilizando os dois protocolos, que foram otimizados, modificados, e são comercializados por BioManguinhos, Fiocruz-RJ.

Com o avanço da pandemia COVID-19 que propiciou o surgimento de mutações e variantes virais de SARS-CoV-2, novos ensaios e *kits* foram desenvolvidos e disponibilizados no mercado internacional.¹⁴⁻¹⁷ Eles empregam diferentes alvos e sondas, alguns incluem o gene *S* e outros a RT-qPCR nos formatos *duplex* e *multiplex*.¹⁴⁻¹⁷ Esses ensaios/*kits* apresentam sensibilidades distintas quando testados em padrões de RNA obtidos de sequências genômicas de isolado de SARS-CoV-2, e em algumas amostras clínicas. Porém, devido à escassez de insumos e reagentes e à rapidez com que o vírus se espalhou pelo mundo, muitos *kits* foram disponibilizados e utilizados no diagnóstico de COVID-19, sem um estudo de seu desempenho em amostras clínicas obtidas de pacientes de diferentes regiões geográficas. Não foi diferente no Brasil, onde houve carência de insumos, *kits* e reagentes necessários às várias etapas deste diagnóstico, e os *kits* disponíveis no comércio foram usados sem a devida avaliação de seu desempenho para detectar as estirpes virais que circulam no país.

Coube a alguns Laboratórios de Referência em Vírus Respiratórios do Brasil implantar o diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 utilizando os protocolos e *kits* disponíveis no mercado nacional, treinar outros laboratórios na execução de técnicas moleculares, realizar contraprova dos exames executados por outras unidades de saúde, e contribuir com a rotina diagnóstica de SARS-CoV-2 em sua região de abrangência. Este foi o caso do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo (IAL), que sendo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) e Referência Macroregional em Vírus Respiratórios do Ministério da Saúde do Brasil (*RSV*, *Influenza A* e *B*, *Parainfluenza 1, 2, 3* e *4*, *Adenovirus*, *Rhinovirus*, *Coronavirus*, entre outros), em fevereiro de 2020, tornou-se responsável pelo diagnóstico e vigilância de SARS-CoV-2 em São Paulo e região.

Digno de nota, o IAL foi o primeiro laboratório a implantar o diagnóstico da COVID-19 por RT-PCR no país. Pesquisadores do Laboratório Estratégico (LEIAL) e do Centro de Virologia (CV) junto a pesquisadores do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IMT-FMUSP), utilizando protocolo recomendado pela WHO e a pesquisa de outros vírus respiratórios que poderiam dar sintomas semelhantes

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

à COVID-19, em fevereiro de 2020, liberaram os 24 primeiros resultados negativos de SARS-CoV-2 (à época denominado 2019-nCoV) em casos suspeitos de infecção.¹⁸

Em 26 de fevereiro de 2020, foi identificado o primeiro caso de COVID-19 do Brasil, em São Paulo: tratava-se de um homem com 61 anos que havia retornado de uma viagem à região da Lombardia, Itália, e que quando regressou apresentou sintomas de gripe. Foi atendido no Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo, e a suspeita de COVID-19 se deu pela clínica e o antecedente epidemiológico. O diagnóstico foi confirmado por RT-qPCR para SARS-CoV-2 no Hospital. A contraprova foi realizada no IAL, que em 28 de fevereiro de 2020 participou do primeiro sequenciamento do genoma completo de SARS-CoV-2, isolado deste paciente, juntamente com profissionais do IMT-FMUSP e da Universidade de Oxford, (<https://www.saopaulo.sp.gov.br/spnoticias/governo-de-sp-faz-sequenciamento-genetico-inedito-de-coronavirus-na-america-latina/>). Posteriormente, também pelo mesmo grupo e com as amostras encaminhadas ao IAL para análise, houve a confirmação do segundo caso em pessoa que havia viajado para a Itália, mas sem parentesco ou contato com o caso index,¹⁹ e a seguir o sequenciamento completo de SARS-CoV-2 dos seis primeiros casos de COVID-19 detectados em São Paulo, revelando que três sequências eram idênticas (caso index e dois contatos) e as outras três divergiam, mas havia histórico de viagem à Europa pelos infectados.²⁰

No IAL-SP, durante esta pandemia, vários protocolos, *kits* e equipamentos foram utilizados no diagnóstico molecular da COVID-19. Houve necessidade de se adequar áreas físicas, remanejar, e posteriormente contratar pessoal técnico, criar novos laboratórios (Polos 1, 2 e 3) e um Biobanco (para armazenar as amostras da rotina diagnóstica), bem como, ampliar, contratar e equipar o Laboratório Estratégico (LEIAL) com aparelhos e softwares para sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, NGS), edição e análise das sequências, necessários à vigilância genômica de SARS-CoV-2.

2. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE SARS-CoV-2 NO IAL

2.1. KITS, REAGENTES E PROTOCOLOS

Para a extração de RNA das amostras encaminhadas ao IAL para pesquisa de SARS-CoV-2, foram utilizados diversos protocolos que dependeram da disponibilidade de insumos e equipamentos e da demanda de exames. Foram empregados protocolos de extração manual, automatizada e rápida.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Em síntese, nos sistemas manual e automatizado há quatro etapas (lise da amostra, ligação do RNA à sílica, lavagem e eluição). A diferença entre eles é que o sistema manual ocorre por meio do uso de tubos (um deles contendo coluna com sílica), há necessidade de vórtex, termobloco e centrífuga, a extração deve se realizada dentro de cabine de segurança biológica (devido ao risco biológico), e o tempo de execução para extração de RNA de 32 amostras é de 2,5 h. Já o sistema automatizado utiliza *kit* e aparelho próprio, esferas eletromagnéticas cobertas com sílica, sistema fechado, e é capaz de extrair o RNA de 96 amostras em cerca de 1 h. Quanto à extração rápida, esta emprega um tampão de lise, vórtex, termobloco para aquecimento a 95°C e banho de gelo para resfriamento rápido. São necessários 30 min para processar 32 amostras. Este tipo de extração não separa ácidos nucleicos, apenas os expõe, o que significa extração “suja”. Este fato limita o uso do material extraído em até 24h quando mantido congelado e este RNA não se presta ao sequenciamento.

Os *kits* de extração de RNA utilizados pelo IAL no período foram:

Para extração manual

- Extração de RNA viral – IBMP, Instituto de Biotecnologia do Paraná, PR, Brasil
- Extração de ácidos nucleicos – IBMP, Instituto de Biotecnologia do Paraná, PR, Brasil.
- Extração de DNA/RNA viral BioGene – Bioclin, Quibasa, MG, Brasil.
- QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, USA).

Para extração automatizada

- Loccus Extracta 32 equipment – Extracta Kit NA viral (RNA/DNA) e Extracta Kit Fast DNA e RNA viral, Loccus, SP, Brasil.
- Loccus Extracta 96 equipment – Extracta Kit Fast DNA e RNA viral, Loccus, SP, Brasil.
- Perkin Elmer Chemagic 360-D equipment – Kit Chemagic Viral 300 360H96 (extração de ácido nucleico total), PerkinElmer Inc., Ohio, USA.

Para extração rápida

Foi utilizado o QuickExtract DNA Extraction Solution – Lucigen, Epicentre, USA.

Todas as extrações (manual, automatizada e rápida) seguiram as recomendações dos fabricantes.

Protocolos e Kits de RT-qPCR

Quanto aos protocolos e kits empregados na rotina de RT-qPCR SARS-CoV-2, foram utilizados no período (i) BioManguinhos (*E/RdRP/RP*) - *single*; (ii) BioManguinhos (*N1/N2/RP*) - *single*; (iii) In-house (*E/RP*) - *duplex*; (iv) IBMP (*orf-1ab/N/RP*) - *multiplex* e (v) Allplex (*E/RdRP/N/IC*) + *RP* - *multiplex + single*, ressaltando que no início foram usados *primers* e *probes* referentes aos protocolos Charité-Berlin e CDC-Atlanta, e posteriormente, os kits comercializados por BioManguinhos, Fiocruz-RJ adaptados desses protocolos.

Porém, a maioria das amostras testadas pela RT-qPCR SARS-CoV-2 no IAL empregaram o kit Allplex 2019-nCoV Assay, Seegene, Korea, enviado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde (MS) a todos os LACENs do país. Resumidamente, este kit emprega uma RT-qPCR *multiplex (quadriplex)* e como genes alvo e sondas marcadas *E* (FAM), *N* (Cal Red 610), *RdRP* (Quasar 670) e como controle interno *IC* (HEX). Porém, este *IC* não funcionou bem com os insumos e equipamentos disponíveis nos laboratórios do IAL e de outros LACENs (valores de Ct >35, e 20% de resultados falso-negativos, comunicações verbais). Isto ocorreu provavelmente devido ao fato deste alvo ter sido primeiramente padronizado para as condições e equipamentos do fabricante Seegene (NIMBUS/STARlet equipment), e posteriormente, para outros dois equipamentos (SEEPREP 32, Seegene, and NucliSENS easyMAG, BioMérieux). Também foi otimizado para ser empregado com amostras de RNA extraídas por dois kits (Ribospin vRD Kit, GeneAII, e QIAamp DSP Virus Spin Kit, Qiagen). No entanto, nenhum desses kits e equipamentos se encontra disponível no IAL e nos LACENs do Brasil. Todavia, este kit mostrou ótimo desempenho para a pesquisa dos três alvos específicos de SARS-CoV-2, e foi utilizado sem a adição de seu *IC*. Ademais, no início, para confirmar que havia material (RNA) de boa qualidade para ser amplificado, foi usada pesquisa do gene *RP*, segundo protocolo descrito por Emery e colaboradores.²¹

Todas as outras RT-qPCR foram executadas seguindo as instruções dos fabricantes. O critério de interpretação dos resultados levou em consideração não apenas o valor de Ct (*cycle threshold*), mas também as características das curvas exponencial/linear de amplificação/quantificação. A Tabela 2 mostra com mais detalhes os kits utilizados

na rotina, bem como outros *kits* que foram avaliados quanto ao seu desempenho e custo-efetividade pelo IAL.

Tabela 2. *Kits* e ensaios de RT-qPCR para o diagnóstico de SARS-CoV-2 testados e utilizados pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

Nome do kit/ensaio no comércio	Desenvolvedor/ Fabricante (país)	Nome do kit/ ensaio na rotina	Genes alvo (fluoróforo de marcação da sonda)	Método	Valor de Ct para resultado positivo (detectado)
GeneFinder COVID-19 plus RealAmp kit	Osang Healthcare Co. (Korea)	GeneFinder	<i>RdRP</i> (FAM), <i>N</i> (VIC), <i>E</i> (Texas Red), <i>IC</i> (Cy5)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
2019-nCoV RNA PCR-Fluorescent Probing	Da An Gene Co. (China)	Da An Gene	<i>N</i> (FAM), <i>ORF 1ab</i> (Yellow), <i>IC</i> (Cy5)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
Charité-Berlin v2 protocol ²²	Charité-Berlin (Alemanha)	Charité-Berlin	<i>E</i> (FAM), <i>RdRP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 40
In-house RT-qPCR SARS-CoV-2, IAL ²²	IAL (Brasil)	In house IAL	<i>E</i> (FAM), <i>RP</i> (HEX) <i>RdRP</i> (FAM)	Duplex RT-qPCR	Ct ≤ 38
2019-nCoV kit ^a	IDT, CDC Atlanta (EUA)	IDT-CDC	<i>N1</i> (FAM), <i>N2</i> (FAM), <i>RP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 39
Molecular SARS-CoV-2 (E) Bio-Manguinhos ²²	Bio-Manguinhos (Brasil)	Bio-Manguinhos	<i>E</i> (FAM), <i>RP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 40
Allplex 2019-nCoV Assay ^b	Seegene (Korea)	Allplex	<i>E</i> (FAM), <i>N</i> (Quasar 670), <i>RdRP</i> (Cal Red 610), <i>IC</i> (HEX)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
Biomol OneStep/COVID-19 IBMP	IBMP (Brasil)	IBMP	<i>N</i> (HEX/VIC), <i>ORF 1ab</i> (FAM), <i>IC</i> (ROX)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40

Ct, cycle threshold; *RdRP*, RNA-dependent RNA polymerase; *ORF1ab*, open-reading frame *ORF1ab* region; *N*, nucleocapsid; *E*, envelope gene; *RP*, human ribonuclease p; *IC*, internal control. ^a, atualmente comercializado por BioManguinhos, Fiocruz-RJ. ²², Protocolos revisados e adaptados de Corman et al., 2020. ^b, *IC* não acrescido ao teste e posteriormente substituído por *RP*.

3. PESQUISAS RELACIONADAS AO DIGNÓSTICO MOLECULAR

Pesquisadores do Núcleo de Doenças Respiratórias do CV, preocupados com a escassez de insumos e o aumento da demanda de exames de diagnóstico molecular da COVID-19, decidiram logo após o envio pela CGLAB do *kit* Allplex 2019-nCoV Assay, Seegene, otimizá-lo para as condições do laboratório (insumos e equipamentos disponíveis). Assim, realizaram uma modificação no seu *IC* (HEX) substituindo-o por *RP* (VIC), com ótimo desempenho (dados não publicados).

Ainda, pesquisadores do CV vislumbrando que haveria escassez de *swabs* e equipamentos de proteção individual utilizados na coleta de material de NP/OP para pesquisa de SARS-CoV-2, decidiram avaliar o emprego de material de gargarejo coletado pelo próprio paciente, utilizando para tanto solução fisiológica e tubo de ensaio. Em pesquisa realizada com profissionais da área da saúde e trabalhadores terceirizados do IAL e usando o *kit* Allplex para detectar casos incidentes, foram capazes de verificar diferenças nos valores de Ct de acordo com o status clínico dos indivíduos: Ct mais altos em assintomático, e mais baixos em pré-sintomático e sintomático, além de valores de Ct mais altos em amostras obtidas por gargarejo quando comparadas às obtidas de NP/OP. Apesar da diferença nos valores de Ct, amostras de gargarejo se prestaram ao diagnóstico de SARS-CoV-2.²³

Posteriormente, com intuito de diminuir ainda mais os custos e tempo para realização de exames, os mesmos pesquisadores usando o *kit* Allplex compararam os resultados obtidos em amostras individualizadas e em *pool* de cinco e dez amostras. Usaram para a composição dos *pools*, material armazenado em freezer obtido de NP/OP, gargarejo e saliva que haviam sido analisados anteriormente de forma individual quanto à presença de SARS-CoV-2, e empregaram dois métodos de extração de RNA: método manual utilizando o QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, USA) e método rápido utilizando o Quick Extract DNA extraction solution (Lucigen, USA). Os resultados obtidos mostraram que a técnica de *pool* de amostras pode ser usada quando as amostras individuais apresentam valores de Ct <30. Quando os Ct >30 há limitações no uso do *pool*, principalmente quando se usa material extraído pelo *kit* Lucigen (extração rápida), que pode resultar falso-negativo para SARS-CoV-2. No entanto, para triagem de pessoas potencialmente infectantes (que apresentam alta carga viral, e conseqüentemente, valores mais baixos de Ct), a técnica de *pool* de amostras mostrou ser fatível.²⁴

Outro estudo de comparação de desempenho e custo-efetividade de técnicas de extração de RNA foi conduzido por pesquisadores do LEIAL e do Centro de Imunologia (CIM). Foram selecionadas aleatoriamente 300 amostras de NP/OP de biobanco de COVID-19 e empregados os *kits* de procedência nacional para as técnicas de extração manual e automatizada (BioGene, Bioclin Quibasa, MG e Loccus, Extracta Kit FAST e Loccus 32 equipment, Loccus, SP, respectivamente), e para a extração rápida, o Quick DNA Extract Kit, Lucigen, USA. Na RT-qPCR SARS-CoV-2 foram usados o *kit* Allplex e o protocolo Charité-Berlin. Os resultados obtidos com as extrações de RNA usando o *kit* Allplex revelaram que tanto a extração manual (BioGene) como a automatizada (Loccus) eram 100% sensíveis na detecção de SARS-CoV-2, e a extração rápida (Lucigen) 91,9% sensível. Porém, usando o protocolo Charité-Berlin, as sensibilidades decaíram para cerca

80% (manual e automatizada) e 60,7% (rápida), sendo o alvo *RdRP* o mais comprometido pela extração de RNA. Com esses resultados concluiu-se que as extrações, manual e automatizada, são eficientes, e embora a extração manual seja menos dispendiosa, a automatizada permite extrair mais amostras em um menor tempo, sendo de escolha durante epidemias e pandemias. Apesar de menos sensível, a extração rápida pode ser usada durante surtos com o *kit* Allplex (índice *Kappa*, $\kappa = 0.925$).²⁵

Outro trabalho realizado por pesquisadores do CIM, LEIAL e Centro de Bacteriologia (CB), foi verificar o desempenho e custo-efetividade de diferentes *kits*/protocolos de RT-qPCR disponibilizados para a pesquisa de SARS-CoV-2 no IAL, no ano de 2020. Duzentas e cinco amostras de NP/OP de biobanco e sete *kits*/protocolos disponíveis no mercado nacional foram empregados nesta pesquisa: (i) GeneFinder COVID-19 plus RealAmp kit; (ii) 2019-nCoV RNA PCRFluorescence Probing, Da An Gene Co.; (iii) *in house* RT-qPCR SARS-CoV-2 IAL; (iv) 2019-nCoV kit, IDT; (v) molecular SARS-CoV-2 (E) kit, Bio-Manguinhos; (vi) Allplex 2019-nCoV modified Assay, Seegene Inc, e (vii) Biomol one-step COVID-19 kit, IBMP. Os resultados obtidos evidenciaram que, embora com sensibilidade e especificidade distintas (sensibilidade variando entre 83,6% e 100% e especificidade entre 97,8% e 100%), todos se prestaram ao diagnóstico de SARS-CoV-2 (todos $\kappa \geq 0.893$), não obstante, os que usavam o formato *multiplex* e pesquisavam mais de um alvo (gene) tenham sido mais sensíveis e de melhor custo-efetividade.²⁶ Ainda, nesse mesmo estudo, padronizaram um ensaio *duplex* de RT-qPCR *in house* que utiliza a pesquisa do gene *E* (FAM) junto a *RP* (HEX),²⁶ com base nos alvos e protocolos descritos em anos anteriores.^{21,22} Esse trabalho foi de importância, pois mostrou que o protocolo *duplex* de RT-qPCR *in house* era exequível, de menor custo, e poderia ser usado como rotina na falta de insumos e de outros *kits* no mercado nacional. Ademais, comprovou que apesar dos problemas evidenciados com o *IC* do *kit* Allplex, esse *kit* foi o que apresentou o melhor desempenho podendo ser usado com segurança pelos LACENS.²⁶

Outras pesquisas se seguiram, uma delas conduzida no Centro de Laboratório Regional de Santo André (CLR-Santo André), na qual um caso atípico de COVID-19 com quadro de hematúria teve seu diagnóstico confirmado pela pesquisa de SARS-CoV-2 na urina usando dois protocolos/*kits* (Charité-Berlin, BioManguinhos, Fiocruz-RJ e IDT, CDC/BioManguinhos, Fiocruz-RJ). Esse estudo ressaltou a importância desse fluido biológico como potencialmente infectante, e discutiu possíveis formas de transmissão/aquisição viral através de aerossóis formados durante descarga em banheiros públicos, manipulação (centrifugação) de urina em exames de laboratório, e cirurgias do aparelho urinário, entre outros.²⁷

Outro estudo importante conduzido nos laboratórios do CV e CLR-Santo André, comparou o desempenho de dois testes rápidos (imunocromatográficos) de pesquisa de antígeno de SARS-CoV-2 (COVID-19 Ag ECO Test, ECO Diagnóstica e Panbio COVID-19 Ag Rapid Test, Abbott) com a pesquisa de RNA pela RT-qPCR em 108 amostras de NP/OP de casos suspeitos de COVID-19. Foram usados três kits de RT-qPCR disponíveis nos laboratórios (GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit, Allplex Kit, e IDT, CDC/BioManguinhos). No geral, os resultados obtidos com os testes rápidos quando comparados à RT-qPCR evidenciaram sensibilidade de 87%, especificidade de 96%, $\kappa = 0,84$. Portanto, apesar de menos sensíveis, os testes rápidos demonstraram ser uma boa alternativa, em virtude de sua rapidez, simplicidade e baixo custo, podendo auxiliar no diagnóstico rápido da COVID-19 e no controle de sua disseminação.²⁸

Outra aplicação de técnicas moleculares de diagnóstico da COVID-19 se refere a estudos de fisiopatologia e causa *mortis*, em que material de autópsia pode ser analisado por RT-PCR, além da histologia, microscopia eletrônica (ME) e imunohistoquímica (IHQ); o primeiro detectando RNA viral e as subsequentes, alterações teciduais, partículas virais completas (vírions) e presença de antígenos de SARS-CoV-2 em tecidos, respectivamente. Nesse sentido, um estudo relevante conduzido em parceria entre pesquisadores do Centro de Patologia (CPA) e da FMUSP com material de autópsia de cinco crianças e adolescentes que morreram de COVID-19 (idade entre sete meses a 15 anos), evidenciaram a presença de SARS-CoV-2 em órgãos vitais como pulmões, coração, cérebro, rins, fígado e baço. Em todos os pacientes, o SARS-CoV-2 foi detectado nos pulmões, coração e rins por pelo menos um dos métodos de RT-PCR, IHQ ou ME. Os autores concluíram que a presença de SARS-CoV-2 em vários órgãos associada a alterações celulares, confirma a hipótese que o SARS-CoV-2 tem efeito direto nos tecidos envolvidos na patogênese da síndrome inflamatória multisistêmica em crianças (*multisystem inflammatory syndrome in children, MIS-C*).²⁹

Mais recentemente, o mesmo grupo de pesquisadores do CPA em estudo colaborativo com pesquisadores da Faculdade de Odontologia da USP e da FMUSP, e usando as técnicas descritas para pesquisa de SARS-CoV-2 em tecidos, realizaram um estudo em material de biópsia de glândulas salivares de 24 pacientes que morreram em decorrência da COVID-19. Houve a detecção de SARS-CoV-2 por RT-PCR em dois terços das amostras analisadas, além da presença de antígenos de SARS-CoV-2 por IHQ, e a visualização de replicação viral (aglomerado de vírions) por ME. Os resultados obtidos indicaram que as glândulas salivares são reservatório de SARS-CoV-2, e deram suporte ao uso da saliva como método de diagnóstico da COVID-19, e como fonte de disseminação da doença.³⁰

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

4. PESQUISAS RELACIONADAS AO SEQUENCIAMENTO GENÔMICO

Tão importante quanto os estudos apontados anteriormente, foram aqueles que buscaram realizar a vigilância genômica de SARS-CoV-2, utilizando sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, NGS) realizados no LEIAL. Um compilado das atividades e sequências completas depositadas no *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), assim como das variantes virais que circularam durante o primeiro ano de pandemia da COVID-19 no Brasil, foi recentemente publicado por pesquisadores do LEIAL, CB e CIM no Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA).³¹ Ademais, vêm sendo elaborados e emitidos Boletins de Monitoramento de SARS-CoV-2 pelo Centro de Respostas Rápidas (CCR) do IAL, publicados periodicamente no site do IAL (<http://www.ial.sp.gov.br/>), e na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) da SES-SP (<https://ses.sp.bvs.br/producao-cientificadosp-profissionais-da-ses-sp-indexadas-na-bvs-ric/>).

Nos Boletins de Monitoramento da SARS-CoV-2 de 2021, pode-se acompanhar a evolução das variantes virais que circulam nos 17 Departamentos Regionais de Saúde do Estado de São Paulo (DRS-I a DRS-XVII) com figuras representativas em percentagens de cada variante viral encontrada, com destaque para as VOC e para as variantes de interesse (*variants of interest*, VOI).³²⁻⁴⁴

Digno de nota, esses Boletins refletem com maior precisão o que vem ocorrendo no Estado de São Paulo, visto que esse Estado é heterogêneo, e cada região de saúde tem sua particularidade, como: tradição na construção das políticas regionalizadas, dinâmica de movimento populacional, características geográficas, condições socioeconômicas e orçamentárias e participação nas diferentes Redes Regionais de Atenção à Saúde.

Em um trabalho conjunto dos Grupos de Vigilância Epidemiológica e os 12 CLRs-IAL, vêm sendo selecionadas amostras positivas para SARS-CoV-2 com relevância clínico-epidemiológica e com representatividade estatística, e encaminhadas ao LEIAL para sequenciamento. Apesar do LEIAL ser o responsável pela maioria das sequências depositadas em GISAID de São Paulo, nos últimos meses, foram realizados estudos com material sequenciado tanto pelo IAL, como por outras instituições, desde que com qualidade aceitável, de acordo com a Resolução SS-28/2021. Isto vem possibilitando a identificação da ocorrência de casos e acompanhamento da disseminação da doença no tempo e no espaço, identificando municípios que apresentam risco alto de casos e óbitos em comparação aos municípios vizinhos.

De destaques, no Boletim de Monitoramento da SARS-CoV-2 do IAL de janeiro de 2021, foi confirmada a presença da VOC do Reino Unido B.1.1.7 (atualmente denominada

alpha), em dois casos de COVID-19 de São Paulo, cujas amostras foram encaminhadas ao IAL pelo laboratório privado DASA.³² Em dois Boletins de Monitoramento de fevereiro de 2021 foram descritos os primeiros casos da VOC brasileira P.1 (*gamma*) identificadas em São Paulo: os três primeiros casos se referiram a uma pessoa que voltou de viagem a Manaus, e os outros dois a uma paciente de Manaus que veio a São Paulo em busca de tratamento de saúde e sua acompanhante.³³ Também em fevereiro, foram descritos sete casos da variante P.1 em militares do Exército que participaram da Operação Acolhida em Boa Vista, Roraima. Lá, apresentaram sintomas da COVID e foram transportados a São Paulo em avião da Força Aérea Brasileira, recebidos por equipe de saúde, e isolados em Hospital Militar de Área de São Paulo. O material de NP/OP foi coletado e enviado ao IAL para análise. Em sete casos foi detectada a variante P.1 e as sequências depositadas em GISAID.³⁴ Em março de 2021, a variante P.1 já circulava em altos percentuais em São Paulo, na região de Bauru (39,5% das linhagens sequenciadas) e Presidente Prudente (15,7%).³⁵ Com o passar dos meses os percentuais da variante P.1 foram aumentando e ela se propagou para todas as regiões de saúde do estado.^{35-40,42-43} Em junho de 2021, passou a ser responsável por 83% das linhagens detectadas no Estado de São Paulo.⁴⁴ Digno de nota, em 26 de maio de 2021, foi confirmado o primeiro caso da VOC indiana (B.617.2 ou *delta*) em São Paulo, cujo material foi coletado no Aeroporto Internacional de Guarulhos e encaminhado ao IAL pelo laboratório privado CR Diagnósticos. Tratava-se de um homem de 32 anos, que retornou de viagem ao país asiático com sintomas leves de COVID-19. O paciente seguiu para o Rio de Janeiro, município em que pernitoiu em hotel próximo ao Aeroporto Santos Dumont, seguindo posteriormente em veículo fretado para Campos dos Goytacazes, seu local de residência.⁴¹

Diante do exposto e devido ao aumento do número de casos de COVID-19 em São Paulo e no Brasil em decorrência da variante P.1, e sabendo da dificuldade e do alto custo do sequenciamento completo do genoma viral por NGS, pesquisadores do CV e do CLR-Santos decidiram desenvolver um protocolo com base na tecnologia tradicional de sequenciamento de SANGER, buscando sequenciar 95% do gene *S*, e assim detectar mutações características desta variante viral (assinatura molecular) e de outras que poderiam surgir. Usando produtos amplificados em duas reações de n-PCR, foi possível sequenciar 3.785 pares de base do gene *S* e detectar a assinatura molecular da variante P.1 em dois de 11 casos de COVID-19 analisados. Ainda, outras mutações foram encontradas e desta forma foi sugerido que a tecnologia SANGER poderia ser usada em países com poucos recursos financeiros e/ou em outros países na triagem de casos suspeitos de VOCs e VOIs.⁴⁵

Vale aqui ressaltar que o surgimento de variantes virais decorre de um processo adaptativo/evolutivo do vírus ao seu hospedeiro, e que as substituições de nucleotídeos que conferem vantagens aos vírus, como evasão imune e resistência a anticorpos neutralizantes, são incorporadas. Nesse sentido, a mutação E484K que emergiu na região S do genoma de SARS-CoV-2 de forma independente em múltiplas linhagens espalhadas pelo mundo como nas VOCs P.1 (brasileira), B.1.351 (sul africana) e B.1.1.7 (Reino Unido), também foi detectada nas VOIs P.2 e N.9 no Brasil, que evoluíram, respectivamente, das linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33.^{35-40,42-46}

Outro trabalho extremamente importante e que explica a maior transmissibilidade da variante P.1 foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do CIM junto ao Laboratório de Termodinâmica da Universidade Estadual de Campinas. Usando sequências das variantes P.1 identificadas nas cinco regiões geográficas do Brasil depositadas no GISAID e sequência padrão de Wuhan² e ferramentas de predição de estrutura terciária, estabilidade e flexibilidade de proteínas, com ênfase à região de ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira, os pesquisadores verificaram que em pontos onde ocorreram mutações genômicas com troca de aminoácidos, houve aumento de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas na proteína *spike* da variante P.1, conferindo maior rigidez à molécula, ou seja, menor flexibilidade e maior estabilidade de ligação do *receptor-binding domain* ao ACE-1.⁴⁷ Estudos desta natureza são importantes para avaliar imunogenicidade, para a produção de vacinas e o desenvolvimento de drogas.

Outra área em que o sequenciamento é de extrema importância diz respeito ao conhecimento das possíveis causas de “falha vacinal”. Nesse sentido, um estudo recente conduzido por pesquisadores do LEIAL, CIM e CRR mostrou que 20 pessoas vacinadas desenvolveram sintomas graves de COVID-19 (n=10) ou foram a óbito pela doença (n=10).⁴⁸ Em 19 delas foi detectada a VOC P.1 (gamma), e em um caso a VOC B.1.1.7 (alpha). Curiosamente houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0.0232$); sendo que naqueles que adoeceram, a média de idade foi de 54,7 anos, e nos que foram a óbito, 74,3 anos. Os fatores de risco relacionados a esses casos foram: idade, local de residência e local/tipo de trabalho. Assim, trabalhadores da saúde de prontos socorros e ambulâncias com menos idade predominaram entre os casos graves, e idosos que residiam em asilos entre os óbitos. A quase totalidade dos casos havia sido vacinada com a CoronaVac, período em que esta vacina predominou no esquema de vacinação no Estado de São Paulo. Esses dados não significam que a vacinação não foi eficaz, mas sim que, pessoas que manipulam ou estão em contato íntimo com pessoas infectadas por SARS-CoV-2, e aquelas que vivem em locais fechados e que estão em imunossenescência podem adquirir a COVID-19 mesmo vacinadas. Portanto, as medidas de prevenção como:

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

uso de máscaras, higienização das mãos, manter locais de trabalho e residência arejados, evitar aglomerações e usar álcool gel, devem ser mantidas mesmo após a vacinação.⁴⁸ Este estudo confirmou a variante P.1 (gamma) como sendo mais transmissível e patogênica, corroborando estudos anteriores,^{7-9,48} e corrobora a adoção da administração de dose de reforço vacinal nestas populações.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora não sendo o enfoque deste trabalho, pesquisas relacionadas ao diagnóstico sorológico da COVID-19 também foram conduzidas e publicadas durante esta pandemia por pesquisadores do IAL.⁴⁹⁻⁵² Outras se encontram em andamento ou em processo de revisão por pares. Muitos dados vêm sendo gerados e a falta de tempo para análise e de recursos financeiros tem dificultado sua divulgação.

O apoio da Diretoria Geral e de todas as Diretorias, Centros e Núcleos que compõem o IAL foram e são de fundamental importância para a realização dos trabalhos de rotina e pesquisas relacionadas à COVID-19. Após um ano e meio de pandemia, mais de um milhão de exames de diagnóstico molecular foram realizados, e mais de 2.000 sequências foram depositadas no GISAID.

Por fim, nesse cenário abrangendo um ano e meio de pandemia, o IAL cumpriu sua missão: (i) realizou ensaios de alta complexidade para a Vigilância Epidemiológica; (ii) realizou pesquisa científica e inovação tecnológica de interesse em Saúde Pública; (iii) e formou recursos humanos especializados para laboratórios de interesse à Saúde Pública.

6. GRUPO DE TRABALHO IAL COVID-19 (FORÇA-TAREFA)

Centro de Virologia

Adriana Jorge, Adriana P. Compri, Adriana Y. Maeda, Ana Lucia C. Avelino, Ana Maria S. Afonso, Andreia F. Neves, Andressa Mathias, Audrey C. Chirelli, Bráulio C. Machado, Carla F. Figueiredo, Cibele D. Ribeiro, Cilene G. Proença, Clóvis R. A. Constantino, Cristina S. Lopes, Daniela B. B. Silva, Daniele Damasceno, Edson A. Andrade, Elda F. Afonso, Fabiana C. Pereira dos Santos, Fernanda G.S. Vasami, Gabrielle Brok, Gisele I. S. L. Lopes, Heloisa R. Vieira, Jaqueline Santos, Jucimara Silva, Katia C. O. Santos, Lia L. G. Cunha, Lincoln Spinazola do Prado, Ludia B. Leite, Luis Claudio S. Lima, Luis F. Macedo Brigido, Maira M.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Birochi, Marcia C. T. Silva, Marcilio F. Lemos, Margarete A. B. Pinho, Maria de Fatima de Jesus, Maria do Carmo S. T. Timenetsky, Mariucha C. Barbosa, Mayara R. M. Alves, Nilceia L. R. Arruda, Nilva M dos Reis, Paula S. Lima, Ramilson Cardoso, Regina C. Moreira, Rita A. Paschoalin, Rita de Cassia C. Carmona, Roberta H. C. R Vitorino, Rodrigo F. Barros, Sarai J. S. Silva, Simone G. Morillo, Stephanie Kirstein, Terezinha Maria de Paiva, Vanessa C. M. Silva, Vanessa Veras, Zelia Santos.

Centro de Imunologia

Adele Caterino-de-Araujo, Adriana Pardini Vicentini, Alonso Fernandes, André Rodrigues de Campos, Andreia Ribeiro C. Cardoso, Carlos Roberto Prudencio, Carmem Aparecida de F. Oliveira, Cyro Alves de Brito, Edilene Peres Real da Silveira, Elaine Aparecida Roma de Paula, Elaine Lopes de Oliveira, Elenice Madalena dos Santos, Elizabeth N. De Gaspari, Fábio Takenori Higa, Josefa Maria da Hora Silva Lima, Julianne Caravita Grisolia, Julio Cirullo Neto, Lourdes Rehder de A. Vaz de Lima, Lucila Okuyama Fukasawa, Márcia Jorge Castejon, Maria Gisele Gonçalves, Marisa Ailin Hong, Maristela Marques Salgado, Mayra Caroline da Silva Ferreira, Natalia Isola Alduini, Neusa Satomi Sato, Patricia Del Angelo, Paula Ordonhez Rigato, Raquel dos Anjos Fazioli, Rosemeire Yamashiro, Suely de Souza Guerreiro, Suely Sanae Kashino, Talita Silva Mota, Thainá Rocha Teixeira, Vanessa Cristina Barbosa, Vanilse Lopes Torres, Vasco Gouveia Santos.

Centro de Bacteriologia

Ana Paula Silva de Lemos, Andréia Rodrigues de Souza, Angela Pires Brandão, Aparecida da Consolação Omura, Ariane Aparecida Vilhalba, Carlos Henrique Camargo, Conceição de Maria S Santos Alves, Daniela Leite, Eliete Caló Romero, Erica Chimara Silva, Fernanda Cristina dos Santos Simeão, Gina Ploeger Mansueli, Helen Caroline Nantes, Jaqueline Alves Delprete, Juliana Cristina Pereira, Juliana Failde Gallo, Juliana Maira Watanaabe Pinhata, Kelli Buosi, Lilian Beserra Santos, Lucilaine Ferrazoli, Luís Fernando dos Santos, Maria Cristina de Cunto Brandileone, Maria de Fátima dos Santos Silva, Maria Helena Costa Cavalcante, Maria Luiza Leopoldo e Silva Guerra, Maria Vaneide de Paiva B. dos Santos, Marlon Benedito Nascimento Santos, Marta Galhardo, Monique Ribeiro Tiba Casas, Raella Biocuzzi Carone, Ricardo Polatto, Roberta Morozetti Blanco, Rosangela Siqueira de Oliveira, Rosemeire Capoani Almendros, Rosemeire Cobo Zanella Ramos, Samanta Cristine Grassi Almeida, Sandra Regina S. Pinheiro, Selma Alves de Sousa, Sérgio Bokermann, Sonia Maria da Costa, Tarcilla Corrente Borghesan, Thiago Lima Melo, Ueslei José Dias.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Centro de Parasitologia e Micologia

Ana Rita de Toledo Piza, André Gustavo Tempone Cardoso, Camila da Silva Nivardo, Dulcilena de Matos Castro e Silva, Gabriel Manzi Oliboni, Gabriela Motoie, Ingrid Quevedo Wanichi, Jefferson Sabino Rodrigues, José Eduardo Tolezano, Katia Gomes Castelão, Kelly Siqueira de Souza, Leyva Cecília Vieira de Melo, Lilian Muniz Camilo, Lucas Xavier Bonfietti, Maria Margarete de Souza, Marisa de Jesus de Castro Lima, Miriam Rando Araújo, Murillo Mariano de Moura, Vera Lúcia Pereira Chioccola.

Centro de Patologia

Amaro Nunes Duarte-Neto, Ana Carolina Apelle Bortolucci, Ana Carolina S. Ramos de Carvalho, Aparecida Andrade Pereira, Bruna D. C. Rodrigues, Camila Santos da Silva Ferreira, Cinthya dos Santos Cirqueira Borges, Cristiane Henrique Oliveira, Cristiani Martinez Salzone, Cristina Takami Kanamura, Daniela Etlinger Colonelli, Eliane Margareth Pimenta Carneiro, Fernanda Ducatti, Gleise da Silva Belizario, Hyndyrah Negri Rodrigues Sodré, Jerenice Esdras Ferreira, Juliana Alves Garcia, Juliana Mariotti Guerra, Juliana Possatto F. Takahashi, Karen Miguita, Ketlyn Boschini Figueiredo, Leonardo José Tadeu de Araujo, Lidia Midori Kinamura, Magda Almeida Montalvão, Marilena Oshiro, Pamela Vieira de Moura Leal, Patricia Souza Gonçalves, Regina Maria Catarino, Sandra Lorente, Sonia Maria Pereira de Oliveira, Thaís de Souza Lima, Vitalina da Silva Santos.

Centro de Procedimentos Interdisciplinares

Adriana Villalva, Amanda Siena dos Santos, Ana Paula Cassiolato, Cássio Eduardo de Oliveira, David Richard Rodrigues Bernardes, Eduardo Tadeu Amancio Silva, Elizabeth Harummy Takagi, Filipe Teles Perez, Gabriela Bert o Rodrigues Alves, Grazielle Karina dos Santos Carrasco, Isabelle Dias de Oliveira, José Adão Alves Afonso, Julia Nathalia Alves da Costa, Julia Taeko Utiyama Yoshida, Juliana Aparecida de S  Fernandes, Katie Cristina Takeuti Riciluca, Leonice Sabine de S  Fernandes, Lígia Maria Bozzoli, Mario F. de Medeiros Filho, Nathalia de Fatima da Silva Souza, Nayara da Silva Antonio, Ricardo Cecílio, Tamires Santos de Arruda, Tânia Sueli de Andrade, Vanessa Nieri Zanelatto

Centro de Alimentos

Alcina Maria Liserre, Cecília Geraldine Martins, Christiane Asturiano Ristori Costa, Damaris de Castro Pinto, Laís Fernanda de Pauli-Yamada, Maria Aparecida de Moraes Marciano, Ruth Estela Gravato Rowlands.

Centro de Respostas Rápidas

Adriano Abbud, Alana dos Santos Dias, Andrea de Fátima Neves, Assima Tinani, Caio Vinícius Dias Lopes, Camila Aparecida Leme dos Santos, Camila Vieira Pereira, Claudia Regina Gonçalves, Claudio Tavares Sacchi, Efraim Freitas de Assis, Erica Valessa Ramos Gomes Pagnoca, Igor Valdomiro dos Santos, Isabella Cerqueira Gicirani, Karoline Rodrigues Campos, Luis Gustavo dos Santos, Marilene Rodrigues Costa, Nuria Borges da Luz, Patricia Mara Abreu, Paulo Cezar G da Conceição, Rafael Gomes da Silva, Sueli Lima Melo, Taline Cristina Massaioli Alves.

Diretoria Geral

Adriana Bugno, Amanda dos Santos Miliatti, Carlos Augusto de Oliveira Aranha, Claudia Patara Saraceni, Flavia de Jesus Monteiro, Gilson Ribeiro Pires dos Santos, Givaldo Cavalcanti Bezerra.

CLR Araçatuba

Amanda Soares Alves, Bárbara Braga Ferreira Marta, Bruno Fabiano de Camargo, Celso Cesar Sabino, Doralice da Silva Pires, Edson Moreira Vieira, Eliana Bravo Calemes, Eluiza Mendes dos Santos, Fumiko Miyashita Murai, Juliana Galéra Castilho Kawai, Lucas Hideki Kikuti, Marcia Regina Bordin, Mayara Riguetti Rizzato, Renato Vaz Evangelista, Roseli Aparecida Neves Silva, Simone Valentim Ramos Menegate, Teresa Marilene Bronharo.

CLR Bauru

Adriana Bernadete Pintto Calero, Adriana Pensuti, Adriana Salvaterra de Castilho, Anelise Salina, Cristiana Bombarda de Andrade, Jean Carlos Garcia, Kaio Henrique Luizetti de Almeida, Leticia Tsieme Gushi, Luciana da Silva Ruiz Menezes, Luiz Adalberto Murça Junior, Virgínia Bodelão Richini Pereira, Wesley José dos Santos.

CLR Campinas

Ananda Hevelym Bueno, Carmen Sílvia Teixeira Botelho, Cleide Marques Ferreira, Edimilson Ferreira Lima, Eduardo Yuichi Yochida, Leandro Hideki Ynoue, Maria Cristina Cacciatori de Jesus, Marie Okino Mitue, Michele Rodrigues do Nascimento, Míriam Krahenbuhn, Natália Manuela S. Lourencetti, Stéphanie Zagui Ruivo, Taíse M. C. de Moraes Barbosa, Thalita Mara de Carvalho Perri, Vanessa da Silva Cardoso.

CLR Marília

Alcides Ribeiro Batilani, Alice Maria Gelsi, Aline Pereira da Silva, Camila Reis Santos Guermandi, Daniel Contiero Battistam, Denilson Rhemann Mendonça, Doroti de Oliveira Garcia, Ednéia de Almeida Molina, Erli Rosa Martins Miranda, Geni Maria de Mello, Jaqueline S. Balmant de Sousa, Juliano Kohle, Laís Solha Gomes, Laura Denise Mendes da Silva, Maristela Muros dos Santos, Stephanie Garcia Lima.

CLR Presidente Prudente

Alini Cristina Mariano Silva, Angelino Ferreira Capistano, Diego Fernando de Souza, Diogo Gomes de Lima, Erika Kushikawa Saeki, Esperdina Silva de Paula Foltran, Fabiana Afanani Nogueira, Lorryne Martins de Moraes, Luís Eduardo de Francisco, Lusinete Bernardo da Costa Silva, Maria Aparecida da Silva Trindade, Maria Helena Salomé, Maria Lucia de Castro, Maria Luiza Corazza, Mariza Menezes Romão, Marta Xavier Alfredo Aquino, Renata Ortega S. de Francisco, Rosenilda Bento Martin, Shioko Mizusaki, Thais Tafner Silva Vieira, Vera Lucia Parpinelli Silva, Vinícius Augusto de Souza Cruz.

CLR Ribeirão Preto

Adalice Guedes de Oliveira, Ana Paula Luchetta Pais, Andreia Frigeri, Cacilda Rosa Cardoso da Silva, Cândida Cristina de Souza, Eloisa Fonseca Del Tedesco, Emily Colferai Bonfá, Guilherme Silva Serafim, Hugo Maistrello Torres Lima, Jucélia Cristina dos Santos Sales, Junio César de Faria, Laércio Cândido, Lia Carmem Monteiro da Silva Zerbini, Lilia Adriana Carneiro, Lorena Garcia, Luiza Keico Tanimoto Algarte, Madalena Hisako Tanimoto Okino, Manoel Tadeu de Carvalho Martins, Márcia Aparecida Martins Villela, Marco Antonio Moreira Souto, Maria Helena Iha Matias, Marina Miyuki Okada, Marina Von Atzingen dos Reis, Natália Chierentin Gonçalves Dantas, Nathalia Oliveira Sgarbosa, Nilson Romão da Silva, Norma Rosa Alves, Renata da Silva Ferreira, Silvia Helena Chinarelli Reche, Sonia de Paula Toledo Prado, Tatiane Aparecida Andreozi.

CLR Rio Claro

Andressa Alves de Almeida Cruz, Antonio Barcellos A Fontanella, Dina Maria Joaquim Pereira, Elisangela Fernandes dos Santos, Emygdio de Paula Neto, Gisele Cristina M. Santo Pedro, Jefferson Poles Felipuci, Kaizer José Ferreira Alves, Karina Novelli Biasott, Leticia Rocha Gonçalves, Maria Cecília Hitomi K. F Silva, Maria Celia Satiko Kuzuoka Bueno, Regina Cely Tavares, Silvia Regina Varella.

CLR Santo André

Adriana Gomes da Silva, Akemi Oshiro Guirelli, Ana Paula da Cunha Gonçalves, Andréia Moreira dos Santos Carmo, Antonio Pereira da Silva Filho, Carmelita Selles de Souza, Daniela Rodrigues Colpas, Delma Aparecida Molinari, Elaine Cristina de Mattos, Flavia de Carvalho, Gabriel Henrique Gomes Caroccia, Gabriela de Carvalho Gonçalves, Itatiana Ferreira Rodart, Ivana Barros de Campos, Maranice Cesário, Maranice Cesário, Maria Cecília Cergole Novella, Maria Clarice Pereira da Silva, Maria Julia Lima Lopes, Patrícia de Lima Vicente, Paula Jimena Segura Ramirez, Rute Dal Col, Valéria dos Santos Cândido, Vilma dos Santos M. Gaiotto Daros.

CLR Santos

Ana Carolina Chiou Nascimento, Ana Ruth Pereira de Mello, Andre Luis Monteiro Araujo, Andrea Gobetti C. Bombonatte, Assuscena M. Rodrigues Xavier, Carlos Roberto da Silva, Carmen Medeiros Moreira, Gabriela Bastos Cabral, Isabel da Cruz Silva, Ivy de Jesus Alves, Mirella Massonetto Basilio, Natasha dos Santos N. Soares, Paulo Roberto Marchesoni Pontes, Victoria Santos de Oliveira, Yasmim Annunciato.

CLR São José do Rio Preto

Ana Paula Lemos, Diolalila Rodrigues Nogueira, Fernanda Modesto Tolentino, Janaína Olher M. Montanha, Jaqueline Calça Assis, João Caetano Filho, Licia Fernanda Mangile, Márcia M. C. Nunes Soares, Maricélia Navarro Pinheiro Flores, Michelley Tenório, Otávio da Mata Cunha, Regiane C. H. Castilho, Rita de Cássia Hidaka, Rosa M. Zini.

CLR Sorocaba

Alessandra Aparecida Alves, Aline Bonifácio da Luz, Aparecida Helena de Souza Gomes, Ariane de Fatima Barbosa, Breno de Oliveira Filho, Bruna Evelyn Viana, Cleusa Aparecida Silva, Débora Fernanda P Pavani, Edith Veiga Tavares, Fabiana Beltran, Fabio Alexandre Melo Oliveira, Fabio Hiroto Shimabukuro, Guilherme Augusto Santos Roque, Jose Henrique Pena, Jose Renato de Moraes, Laura Medici Tavares, Luciana Rodrigues Mota, Luiz Roberto Foramiglio, Maria de Fatima Pereira Antunes, Maria de Lourdes M. Shikama Gomes, Nicolas Alves Faccinelli, Paula Sanches dos Santos, Rafael Veiga Tavares, Roberta Tavares de Lacerda, Rosiani Aparecida Volponi, Sandra Regina dos Santos.

CLR Taubaté

Aline Grazieli Silva Marcondes, Andrea Rezende Leite, Célia Regina Santos Santana, Cláudia Santos, Daniel Costa, Fabiane Picchetti Ferraz, Fábio Bardella, Fernanda Auxiliadora Guimarães, João Luiz Toledo, José Carlos Antunes de Souza, José Dolores de Carvalho Neto, Karen Cristine Pavan Rocha, Kathleen Maria dos Santos Tobias, Kátia Regina M. de Freitas Martins, Leonel Fávaro, Márcio K G Inumaru, Marilena Fogaça de Souza Soares, Paula Cristina Siqueira L. Monteiro, Paulo Ribeiro de Carvalho Neto, Regina Lucia da Silva Costa, Renato Pereira de Souza, Rossana Pelogia, Selma Leide Fonseca de Paula, Vanessa Alves Cândido, Wladimir Leme dos Santos

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

7. AGRADECIMENTOS

À Dra. Adriana Bugno, Diretora Técnica de Saúde III, Instituto Adolfo Lutz (IAL), pela confiança e apoio constantes, e pelo envio da relação de pessoas envolvidas nos estudos relacionados à COVID-19 do Laboratório Central e dos 12 Centros de Laboratórios Regionais do IAL. Ao Dr. Adriano Abbud, Diretor do Centro de Respostas Rápidas, pela elaboração dos Boletins de Monitoramento do SARS-CoV-2 indispensáveis para a redação de parte deste manuscrito.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Ton Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel Coronavirus–infected pneumonia. *N Eng J Med*. March 26, 2020;382(13):1199-207. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001316>
2. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579:265-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2008-3>
3. Wit E, Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Rev Microbiol*. 2016;14:523-34. doi:10.1038/nrmicro.2016.81 Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.81.pdf>
4. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Geneva: WHO; 2020 [acesso em 11 Fev 2020]. Disponível em: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
5. World Health Organization. WHO. WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet] WHO; 2020 [acesso em 11 Mar 2020]. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>

6. World Health Organization. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. WHO; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: <https://covid19.who.int/>
7. Souza FSH, Hojo-Souza NS, da Silva CM, Guidoni DL. Second wave of COVID-19 in Brazil: younger at higher risk. *Eur J Epidemiol.* 2021;36(4):441–3. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10654-021-00750-8>.
8. Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, et al., Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV- 2 lineage in Manaus, Brazil. *Science.* 2021 May 21;372(6544):815–2. DOI: 10.1126/science.abh2644. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/372/6544/815/tab-pdf>
9. Freitas ARR, Lemos DRQ, Beckedorff OA, et al. The increase in the risk of severity and fatality rate of covid-19 in southern Brazil after the emergence of the Variant of Concern (VOC) SARS-CoV-2 P.1 was greater among young adults without pre-existing risk conditions. [acesso em 19 Abr 2021] *MedRxiv preprint.* Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.04.13.21255281>
10. Brasil. Ministério da Saúde. Painel Coronavirus 11/07/2021 [Internet]. Ministério da Saúde, Brasília, DF; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
11. Cidade de São Paulo Saúde - Boletim Diário COVID-19, 11/07/2021, Edição 472 [Internet]. Prefeitura de São Paulo, SP; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/20210711_boletim_covid19_diario.pdf
12. Vashist SK. 2020. In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends. *Diagnostics* 10:202. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10040202>
13. Costa EAS, Oliveira ACS, Costa MSF, Ribeiro FPC, Carneiro DO, Martins RA, Amorin CF, Brito AC, Caterino-de-Araujo A. Ensaios de RT-qPCR para detecção de SARS-COV-2: vantagens, limitações e perspectivas. In: Sousa, Anderson Reis de. COVID-19: conhecimento baseado em evidências e soluções criativas/sustentáveis no enfrentamento. Piracanjuba-GO: Editora Conhecimento Livre; 2020. p.385–98. DOI 10.37423/200701759
14. Kubina R, Dziedzic A. Molecular and serological tests for COVID-19. A comparative review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and point-of-care diagnostics. *Diagnostics.* 2020;10:434. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060434>
15. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):747-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1745095>
16. Venter M, Richter K. Towards effective diagnostic assays for COVID-19: a review. *J Clin Pathol.* 2020;73(7):370–7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206685>

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

17. Li C, Zhao C, Bao J, Tang B, Wang Y, Gu B. Laboratory diagnosis of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Clin Chim Acta*. 2020;510:35-46. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.045>
18. Novo Coronavírus - Diagnóstico Implantado. Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2020. Fev 2020. 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
19. SARS-CoV-2 Coronavirus - Genomic Reports. Nuno_Faria. First cases of coronavirus disease (COVID-19) in Brazil, South America (2 genomes, 3rd March 2020). Disponível em: <https://virological.org/t/first-cases-of-coronavirus-disease-covid-19-in-brazil-south-america-2-genomes-3rd-march-2020/409>
20. Jesus JG, Sacchi C, Candido DS, Claro IM, Sales FCS, Manuli ER, et al. Importation and early local transmission of COVID-19 in Brazil, 2020. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2020;62:e30. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202062030>
21. Emery SL, Erdman DD, Bowen MD, Newton BR, Winchell JM, Meyer RF, et al. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for SARS-associated coronavirus. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(2):311–6. doi:10.3201/eid1002.030759. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/2/03-0759_article
22. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000045. Disponível em: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
23. Lopez-Lopes GIS, Ahagon CM, Bonega MA, Santos FP, Santos KCO, Cilli A, et al. Throat wash as a source of SARS-CoV-2 RNA to monitor community spread of COVID-19. medRxiv Posted August 01 2020, Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.07.29.20163998>
24. Lopez-Lopes GI, Carmona RCC, Silva VO, Ahagon CM, Prado LS, Santos FP, et al. SARS-CoV-2 RNA detection using pooling of self-collected samples: Simple protocol may foster asymptomatic surveillance. medRxiv Posted Oct 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.10.05.20205872>
25. Campos KR, Sacchi CT, Gonçalves CR, Pagnoca EVRG, Dias AS, Fukasawa LO, Caterino-de-Araujo A. COVID-19 laboratory diagnosis: Comparative analysis of different extraction methods for SARS-CoV2 detection. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 2021;63:e52. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202163052>
26. Fukasawaa LO, Sacchi CT, Gonçalves MG, Lemos APS, Almeida SCG, Caterino-de-Araujo A. Comparative performances of seven quantitative Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction assays (RT-qPCR) for detecting SARS-CoV-2 infection in samples from individuals

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

- suspected of COVID-19 in São Paulo, Brazil. *J Clin Virol Plus*. 2021;1:100012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2021.100012>
27. Mattos EC, Matsuda EM, Colpas DR, Carvalho F, Carmo AMS, Daros VSMG, et al. Can urine be a potential biohazard in times of SARS-CoV-2 pandemic? *J Med Virol*. 2020;1–3. doi: 10.1002/jmv.26616 Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.26616>
 28. Matsuda EM, Campos IB, Oliveira IP, Colpas DR, Carmo AMS, Brígido LFM. Field evaluation of COVID-19 antigen tests versus RNA based detection: Potential lower sensitivity compensated by immediate results, technical simplicity, and low cost. *J Med Virol*. 2021; 1-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.26985>
 29. Duarte-Neto AN, Caldinia EG, Gomes-Gouvea MS, Kanamura CT, Monteiro RAA, Ferranti JF, et al. An autopsy study of the spectrum of severe COVID-19 in children: From SARS to different phenotypes of MIS-C. *E Clinical Medicine*. 2021;35:100850. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100850>
 30. Matuck BF, Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, Maia G, Gomes SC, Sendyk DI, et al. Salivary glands are a target for SARS-CoV-2: a source for saliva contamination. *J Pathol* 2021; 00: 000–000 Published online 21 May 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/path.5679>
 31. Camargo, Carlos Henrique; Gonçalves, Claudia Regina; Pagnoca, Erica Valessa Ramos Gomes; Campos, Karoline Rodrigues; Abbud, Adriano; Bugno, Adriana; et al. Um ano de pandemia da COVID-19: diversidade genética do SARS-CoV-2 no Brasil. [cited 2021 April 14]. *BEPA – Boletim Epidemiológico Paulista* 2021;18(207):12-33. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/BEPA182/issue/view/2591/308>
 32. Sars-cov-2: monitoramento – Linhagens circulantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Jan 2021 (1). 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 33. Sars-cov-2: monitoramento – Linhagens circulantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Fev 2021. 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 34. Sars-cov-2: monitoramento – Operação Acolhida. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Fev 2021 (2). 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 35. Sars-cov-2: monitoramento - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Mar 2021. 9 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1150966>
 36. Sars-cov-2: monitoramento atualizado em 29 mar 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz São Paulo; SES/SP; 2021. 13 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1152004>

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

37. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 4 abr 2021- Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 15 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1152239>
38. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 27 abr 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1224434>
39. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 1 de maio 2021- Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1222336>
40. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 21 de maio de 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1224553>
41. Sars-cov-2 monitoramento maio 2021 - Detecção de Variantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 2 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1247483>
42. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 5 de junho 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1252760>
43. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 14 de junho de 2021 - Vigilância Epigenômica. Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1253068>
44. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 18 de junho de 2021 - Vigilância Epigenômica. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1253347>
45. Cabral GB, Ahagon CM, Lopez-Lopes GIS, Hussein IM, Guimaraes PM, Cilli A, et al. P1 variants and key amino acid mutations at the Spike gene identified using Sanger protocols. medRxiv Posted March 24, 2021, doi: Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.03.21.21253158>
46. Resende PC, Gräf T, Paixão ACD, Appolinario L, Lopes RS, Mendonça ACF, et al. A Potential SARS-CoV-2 Variant of Interest (VOI) Harboring Mutation E484K in the Spike Protein Was Identified within Lineage B.1.1.33 Circulating in Brazil. Viruses. 2021, 13:724. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13050724>
47. Santos FRS, Azevedo MSP, Bielavsky M, Costa HHM, Ribeiro DG, Nascimento GG, et al. Mutational Profile of SARS-CoV-2 Spike Protein in Brazilian isolates. Research Square, Disponível em: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-402349/v2/14b4e5b9-53dc-4c41-8f67-dbed4179099b.pdf>

48. Campos KR, Sacchi CT, Abbud A, Caterino-de-Araujo A. SARS-CoV-2 variants in severely symptomatic and deceased persons who had been vaccinated against COVID-19 in São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2021;45:e126. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2021.126>
 49. Matsuda EM, Santos AS, Castejon MJ, Ahagon CM, Campos IB, Brígido LFM. COVID-19 in children: a case report of Multisystem Inflammatory Syndrome (MIS-C) in São Paulo, Brazil. *The Brazilian J Infect Dis*. 2020;24(6):580-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.09.002>
 50. Silva VO, Oliveira EL, Castejon MJ, Yamashiro R, Ahagon CM, López-Lopes GI, et al. Prevalence of antibodies against SARS-CoV-2 in professionals of a public health laboratory at São Paulo, SP, Brazil. *medRxiv* October 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.10.19.20213421>
 51. Gaspar EB, De Gaspari E. Avidity assay to test functionality of anti-SARS-Cov-2 antibodies. *Vaccine*. 2021;39:1473-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.003>
 52. Moura A, Costa HH, Correa V, Lima AK, Lindoso JA, Gaspari E, et al. Assessment of avidity related to IgG subclasses in SARS-CoV-2 Brazilian infected patients. *Scientific Reports*. 2021;11:17642. Disponível em <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95045-z>
-

Correspondência/Correspondence to:

Adele Caterino-de-Araujo
Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo, 351, 11º andar, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 01246-000.
Telefone (11) 30682898.
E-mail: adele.caterino@ial.sp.gov.br.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil

Spatial segregation of Aedes aegypti and Aedes albopictus, São Paulo state, Brazil

Lígia Leandro Nunes Serpa^[1], Gerson Laurindo Barbosa^[1], Marylene de Brito Arduino^[1], Valmir Roberto Andrade^[1], Júlio Cesar Voltolini^[2], Virgília Luna Castor de Lima^[1], Gisela Rita Alvarenga Monteiro Marques^[1].

^[1]Superintendência de Controle de Endemias (Sucen). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. ^[2]Universidade de Taubaté (Unitau)

RESUMO

Mudanças no padrão de distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, ocorrem devido a diferentes fatores, dentre eles a interação negativa. Objetivou-se analisar e descrever o padrão de distribuição de ovos dessas espécies. Em ambiente urbano do município de São Sebastião, 80 ovitrampas foram expostas por quatro dias/mês, durante 18 meses, em 40 residências urbanas, de 20 quarteirões, obtidos por sorteio sistemático mensal, em estágio único, de fevereiro de 2011 a julho de 2012. Os imóveis foram georreferenciados, e produziram-se mapas temáticos pelo uso do estimador de densidade Kernel. A presença exclusiva de *Ae. aegypti* foi verificada em 234 armadilhas (78,52%), *Ae. albopictus* em 26 (8,73%) e ambas as espécies em 38 (12,75%). *Ae. aegypti* foi registrado por todo o espaço urbano do município e em todos os meses e estações do ano, além de ter apresentado maior densidade de ovos, sendo o inverso para *Ae. albopictus*. *Ae. aegypti* foi mais presente na região sul, enquanto que *Ae. albopictus* na região norte. A segregação de hábitat de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* merece atenção, já que sua ocorrência favorece uma coexistência urbana e pode gerar consequências à saúde pública, uma vez que são importantes transmissores de arboviroses.

PALAVRAS-CHAVE: *Aedes aegypti*. *Aedes albopictus*. Controle vetorial. Espécies invasoras. Georreferenciamento. Habitat.

ABSTRACT

Changes in the spatial distribution pattern of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* occur due to different factors, among them the negative interaction. The objective of this study was to analyze and describe the distribution pattern of eggs of these species. In an urban environment of the municipality of São Sebastião, 80 ovitraps were exposed for four days/month, during 18 months, in 40 urban residences, from 20 blocks, obtained by monthly systematic drawing, in a single stage, from February 2011 to July 2012. The properties were georeferenced, and thematic maps were produced by using the Kernel density estimator. The exclusive presence of *Ae. aegypti* was verified in 234 traps (78.52%), *Ae. albopictus* in 26 (8.73%) and both species in 38 (12.75%). *Ae. aegypti* was recorded throughout the urban space of the municipality and in all months and seasons of the year, and showed higher density of eggs, the opposite for *Ae. albopictus*. *Ae. aegypti* was more present in the southern region, while *Ae. albopictus* in the northern region. The segregation of habitat of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* deserves attention, since their occurrence favors an urban coexistence and can generate consequences for public health, since they are important transmitters of arboviroses.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*. *Aedes albopictus*. Georeferencing. Habitat. Invasive species. Vector Control.

INTRODUÇÃO

Aedes aegypti e *Aedes albopictus* são importantes mosquitos vetores de patógenos que colonizam o espaço humano com êxito, devido a vários fatores. Ambas as espécies são consideradas invasoras, pois se propagaram para lugares fora de suas áreas nativas. *Ae. aegypti*, principal vetor da dengue, possui origem na África sub-saariana. Foi introduzido na Região Neotropical e atualmente predomina nos espaços urbanos e periurbanos desenvolvendo-se em criadouros de caráter principalmente artificial.¹ Seu alto potencial vetor é atribuído ao hábito de se alimentar quase que exclusivamente de humanos, e mais de uma vez durante um único ciclo gonotrófico.² Sua capacidade de transmissão viral se estende à febre amarela urbana, chikungunya e Zika. O ovo é o estágio de desenvolvimento mais importante na dispersão do mosquito, pois possui grande resistência à seca e longa permanência viável no ambiente³. *Ae. albopictus* provém das selvas do sudeste asiático e ocupa, além de florestas, ambientes urbanos e periurbanos, onde se desenvolve em micro

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

habitats naturais e artificiais. Exibe importância epidemiológica secundária na transmissão do vírus da dengue, entretanto, o conceito dogmático desse vetor deve ser revisto em decorrência de seu comprovado envolvimento na reemergência do vírus chikungunya, e da possibilidade futura de transmissão de outros vírus, haja vista o registro de seu encontro naturalmente infectado com o vírus da febre amarela.⁴

Entender a ecologia da coexistência de espécies de importância médica estreitamente relacionadas pode contribuir para o melhor direcionamento e refinamento das ações de controle desses vetores. Diversos autores relatam a ocorrência simultânea de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, ou seja, a sobreposição espaço-temporal da distribuição dessas espécies em áreas da Ásia tropical, Américas, oeste da África e ilhas africanas no Oceano Índico.⁵⁻⁷ No estado de São Paulo, Brasil, a infestação por esses vetores, no ano de 2017, fazia referência à coocorrência em 93,64% dos municípios paulistas, enquanto a presença exclusiva de *Ae. aegypti* se dava em 5,53% e de *Ae. albopictus*, em 0,63% e apenas dois municípios permaneciam sem infestação, segundo dados da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Em áreas urbanas e periurbanas de coexistência dessas espécies, a coocorrência de larvas pode ser frequente em recipientes artificiais.⁸ Estudos de interação verificaram que a convivência, quando em condições de pouca disponibilidade de recursos, leva à competição⁹. Tal associação, por sua vez, é capaz de ocasionar mudanças no padrão de distribuição espacial e de coocorrência em áreas de simpatria desses *Aedes*.^{4,10,11} Diferenças sazonais favorecem a coexistência, uma vez que atuam como um mecanismo equalizador, ou seja, diminuem a diferença de competitividade entre os competidores.¹¹ Por outro lado, as influências sazonais parecem refletir em aspectos além da interação e podem ocasionar efeitos sobre respostas fenotípicas do indivíduo, o que pode diferir entre os locais de ocorrência, algumas vezes, favorecendo *Ae. aegypti*.^{5,10,12,13}

Leishman et al. (2014),³ estudando o padrão de distribuição sazonal e espacial de *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, e *Culex quinquefasciatus*, citaram que a competição condição-específica e a segregação de hábitat são mecanismos que contribuem para a coexistência de espécies em áreas urbanas.

Estudos da avaliação da distribuição espacial desses vetores em diferentes regiões proporcionam a geração de proposições explicativas sobre a manutenção da condição facilitadora de coocorrência dessas populações em determinadas áreas geográficas. Diante do exposto, o estudo avaliou, no tempo e no espaço geográfico, a presença e distribuição de ovos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, além de verificar diferenças entre o número de

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

armadilhas de ovos para *Ae. aegypti* e para *Ae. albopictus*, assim como entre o número de larvas dessas quando em coocorrência nas armadilhas com ambas as espécies. Revelar tal situação é primordial no gerenciamento do controle de vetores, único elo vulnerável da cadeia epidemiológica das arboviroses por eles veiculadas, o que possibilitaria apontar preditivamente as áreas de maior risco de transmissão de vírus da dengue, chikungunya, Zika e febre amarela, e assim, melhor direcionar estratégias de vigilância entomológica e a alocação mais eficaz de recursos.

METODOLOGIA

A presente pesquisa é derivada do estudo “Avaliação de indicadores entomológicos de dengue em regiões do estado de São Paulo, Brasil” (apoio financeiro Sucen nº 000005/2011 e Fapesp nº 53123-7/2009), que objetivou, entre outros, avaliar e relacionar entre si os indicadores tradicionais, índice de adulto, índice de ovos, índice de pupas, índice de produtividade e produtividade pupal demográfica, conforme pode ser verificado em Serpa et al. (2013)⁷ e Rodrigues et al. (2015).¹⁴

Área de Estudo

A área de estudo considerou a presença de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e a ocorrência de transmissão de dengue endêmica, ininterrupta nos últimos 10 anos. Foi selecionado o município de São Sebastião, CEP 11619-115, localizado na Costa Norte do estado de São Paulo, Brasil (45º21’00”W a 23º21’20”S) (Figura 1).

Com área de aproximadamente 400 km², dos quais $\frac{3}{4}$ é coberto por Mata Atlântica, possui população de 73.942 habitantes e densidade demográfica de 184,68 hab/km² (IBGE).¹⁵ O relevo é de planície litorânea com altitude, no perímetro urbano, de 10 m acima do nível do mar, e registro de temperatura média anual em torno de 24°C. Segundo o Sistema de Classificação Climática (SCC) de Köppen simplificado, São Sebastião é considerado Af, o que caracteriza clima tropical chuvoso, sem estação seca definida e precipitação média do mês mais seco superior a 60 mm.¹⁶

O estudo foi conduzido no perímetro urbano em espaço com variadas condições sanitárias e de nível socioeconômico. Foram contabilizados 532 quarteirões, 16.833 imóveis e população estimada de 40.116 habitantes (IBGE).¹⁵

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

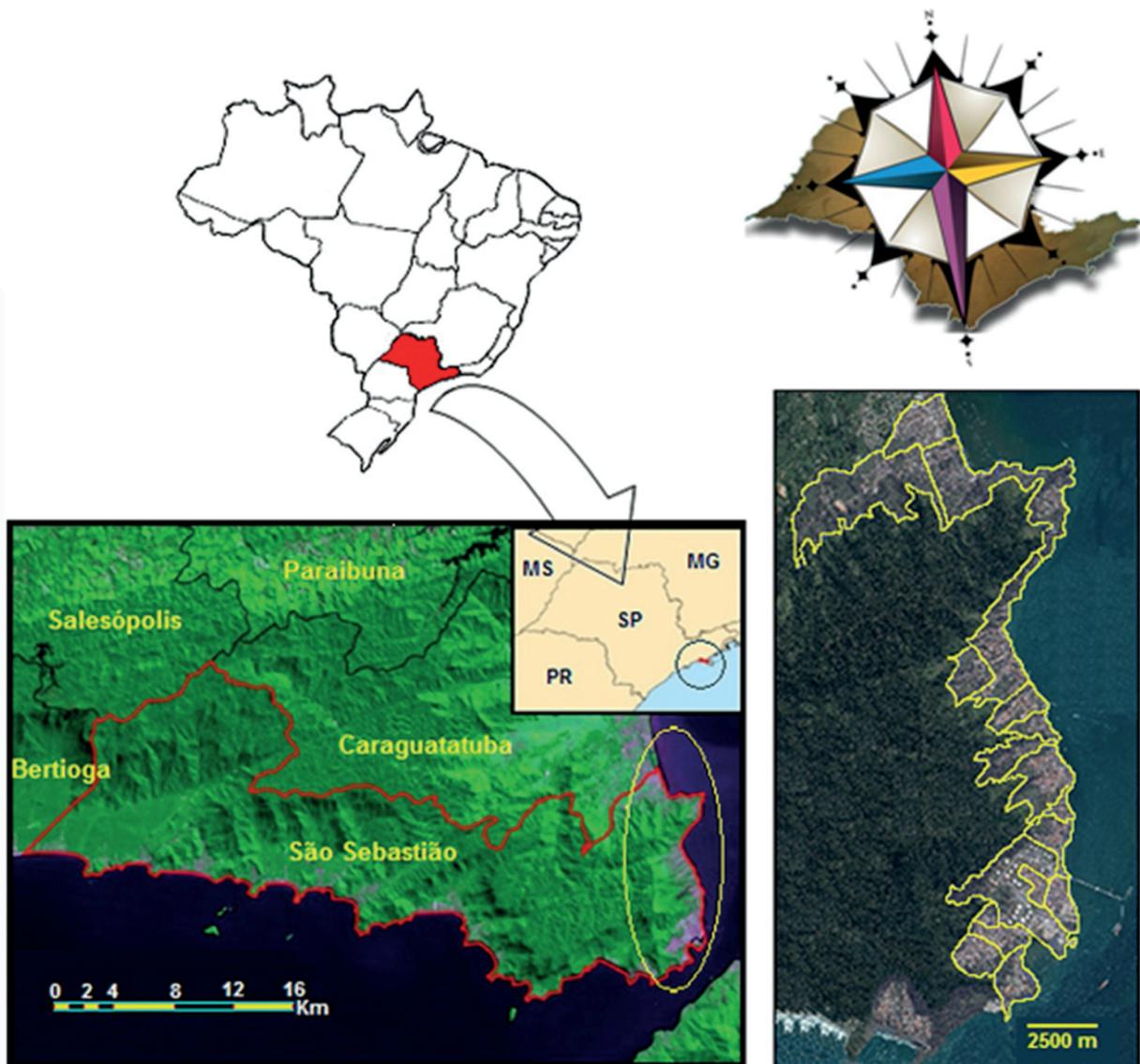


Figura 1. Estado de São Paulo com destaque para o município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, Brasil

A unidade amostral foi o quarteirão, obtido por sorteio sistemático mensal, por conglomerado em estágio único, com reposição.¹⁷ Todos os quarteirões da área de estudo foram numerados para compor o sorteio. O primeiro quarteirão a compor a amostra foi selecionado de forma aleatória e, em seguida, somava-se o intervalo amostral a esse número obtendo-se, assim, todos os quarteirões da amostra, conforme Programa Estadual de Vigilância e Controle de *Aedes aegypti* do Estado de São Paulo.¹⁷⁻¹⁹ Para cada quarteirão sorteado, foram selecionados dois imóveis residenciais, com semelhantes feições paisagísticas e maior distanciamento entre eles. Após consentimento informado

do proprietário, foram instaladas duas armadilhas em cada imóvel, uma no peridomicílio e outra no intradomicílio. Peridomicílio refere-se à área externa do imóvel, em locais adjacentes a casa, enquanto intradomiciliar refere-se a áreas dentro da casa, sob seu telhado. Os locais eram protegidos do acesso de crianças e animais domésticos, padronizado à altura de 1,00 a 1,20 metros acima do nível do chão. O estudo foi realizado de fevereiro de 2011 a julho de 2012 com coleta mensal.

Conforme descrito em Serpa et al. (2013),⁷ a armadilha de ovos consistiu de material plástico preto preenchido com 450 ml de água da torneira e 50 ml de infusão de feno. Em seu interior foi colocada uma palheta de madeira, como um substrato de oviposição. As armadilhas permaneceram em campo durante quatro dias consecutivos por mês. Após cada período de exposição, as palhetas foram recolhidas, e os ovos registados. Os ovos foram imersos em água e as larvas eclodidas, quando nos estádios L₃ ou L₄, foram fixadas em etanol a 70% e identificadas.

Tratamento dos dados

O número de armadilhas positivas para *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e com ambas as espécies, assim como o número de larvas eclodidas, provenientes dessas três condições apontadas, foi comparado usando Kruskal-Wallis.

A análise entre o número de larvas de *Ae. aegypti* e de *Ae. albopictus*, provenientes das armadilhas exclusivas de cada espécie, utilizou teste de Welch, com nível de significância de 0,05. O número de larvas eclodidas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, das armadilhas com ambas as espécies foi comparado usando o teste de Wilcoxon.

A pesquisa foi concluída de acordo com os padrões exigidos pela Declaração de Helsinki e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS).

As armadilhas com presença de ovos foram georreferenciadas, por meio de GPS e identificados na base cartográfica digital em sistema de projeção UTM 23S, Datum SAD69, contendo o polígono do limite da área de estudo, utilizando o programa ArcGis v10.0. Utilizou-se o estimador de densidade Kernel, que permitiu analisar por meio de interpolação, a intensidade do processo de infestação para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, a partir do número de armadilhas com presença exclusiva de cada espécie, em toda a região de estudo.²⁰

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

RESULTADOS

O número de quarteirões e imóveis trabalhados variou mensalmente entre 18 a 22, e de 36 a 44. Em 18 meses de estudo foram instaladas e recolhidas 1.448 armadilhas, das quais 339 (23,41%) apresentaram-se positivas para ovos de *Aedes* (*Stegomyia*). Após imersão, foi verificada eclosão larval em 298 (87,91%), das quais 235 (78,86%) eram armadilhas com *Ae. aegypti*, 25 (10,64%), *Ae. albopictus*, e 38 (16,17%) com ambas as espécies (Tabela 1).

O número de armadilhas com *Ae. aegypti* foi significativamente maior do que com *Ae. albopictus* e com ambas as espécies (Figura 2).

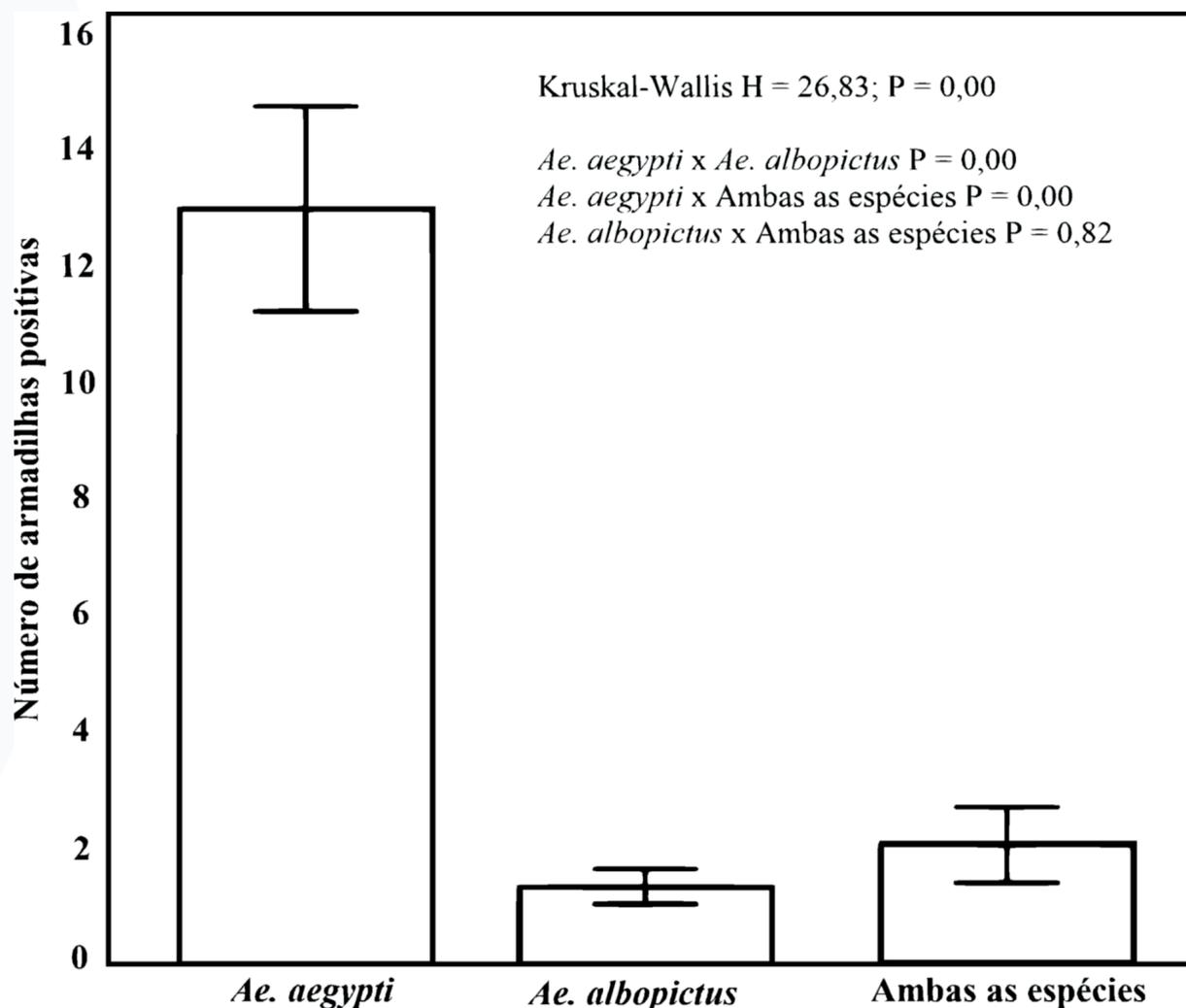


Figura 2. Positividade de armadilhas para *Ae.aegypti*, *Ae.albopictus*, ambas as espécies, e resultados dos testes estatísticos. Município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, fevereiro de 2011 a julho de 2012

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

Na distribuição mensal de larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e ambas as espécies, das 298 armadilhas, (61,67%) exibiram eclosão larval. *Ae. aegypti* ocorreu em maior número (67,68%), seguido da coocorrência (26,23%) nas armadilhas e por último, tem-se *Ae. albopictus* representando 6,09% das larvas (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição mensal de armadilhas instaladas, positivas para ovos de *Aedes Stegomyia*, *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e ambas as espécies. Município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, fevereiro de 2011 a julho de 2012

Mês	Número de armadilhas positivas para ovos			Número de larvas				Número de larvas das armadilhas de ambas as espécies	
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	Ambas as espécies	<i>Ae. Stegomyia</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	Ambas as espécies	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>
fev	29	2	10	3.373	2.137	63	1.173	609	564
mar	15	1	1	511	447	17	47	23	24
abr	18	2	4	1.276	695	123	458	358	100
mai	13	3	3	872	586	107	179	126	53
jun	11	0	0	257	257	0	0	0	0
jul	4	0	0	198	198	0	0	0	0
ago	2	0	0	90	90	0	0	0	0
set	1	0	0	68	68	0	0	0	0
out	8	0	0	282	282	0	0	0	0
nov	16	2	0	870	784	86	0	0	0
dez	14	3	1	597	526	41	30	8	22
jan	24	4	5	1.928	1.252	177	499	382	117
fev	16	2	6	2.154	616	162	1.376	1.247	129
mar	16	3	1	969	883	61	25	21	4
abr	19	1	2	980	737	98	145	141	4
mai	15	1	4	822	607	26	189	82	107
jun	11	1	1	555	491	9	55	7	48
jul	3	0	0	119	119	0	0	0	0
Total	235	25	38	15.921	10.775	970	4.176	3.004	1.172

Quando comparado o número de larvas eclodidas, provenientes das três situações de armadilhas detectadas, *Ae. aegypti* foi significativamente maior do que de *Ae. albopictus* ($p=0,00$) e de ambas as espécies ($p=0,00$) (Figura 3).

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

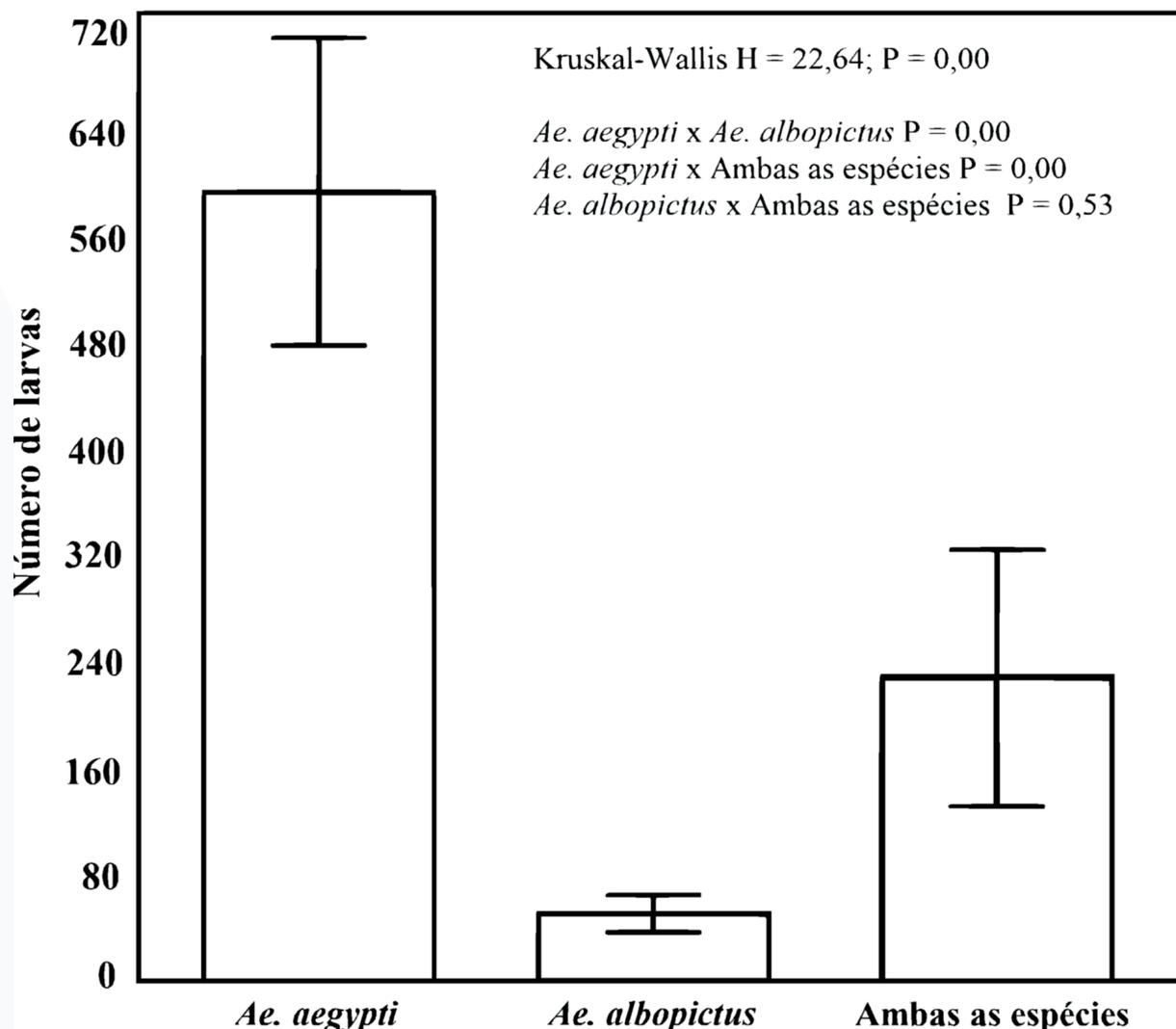


Figura 3. Número de larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e de ambas as espécies, em cada uma das três condições, e resultados dos testes estatísticos. Município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, fevereiro de 2011 a julho de 2012

A distribuição da coexistência mostrou que o comportamento das larvas de ambas as espécies foi semelhante, maior abundância nos meses de janeiro a maio, com variação no seu número ao longo de todo o período estudado.

O número de larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* diminuiu substancialmente no final do verão (março) e do outono (junho). No geral, a proporção de larvas de *Ae. aegypti* foi maior que a de *Ae. albopictus*, 70,00% e 30,00%, respectivamente, exceto nos meses de fevereiro e dezembro de 2011, maio e junho de 2012. No período de inverno e primavera, não foi registrada a coexistência. Nas armadilhas com ocorrência simultânea, o número de larvas de *Ae. aegypti* também foi maior, porém sem diferença estatística.

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

A Figura 4 mostra os mapas temáticos da área de estudo com o comportamento da distribuição de *Ae. aegypti*. No 1º quadrimestre do período estudado a presença do vetor foi constatada em toda a extensão do município (A). No quadrimestre seguinte verifica-se redução marcante de sua densidade (B). De outubro a dezembro de 2011 e janeiro de 2012, o mosquito retoma expressividade semelhante à observada no início do estudo, com discreta modificação na distribuição dos pontos de aglomerados (C). Por fim, o quadrimestre de fevereiro a maio de 2012 revelou-se como período de menor número de pontos quentes restringindo-se à área sul do município (D).

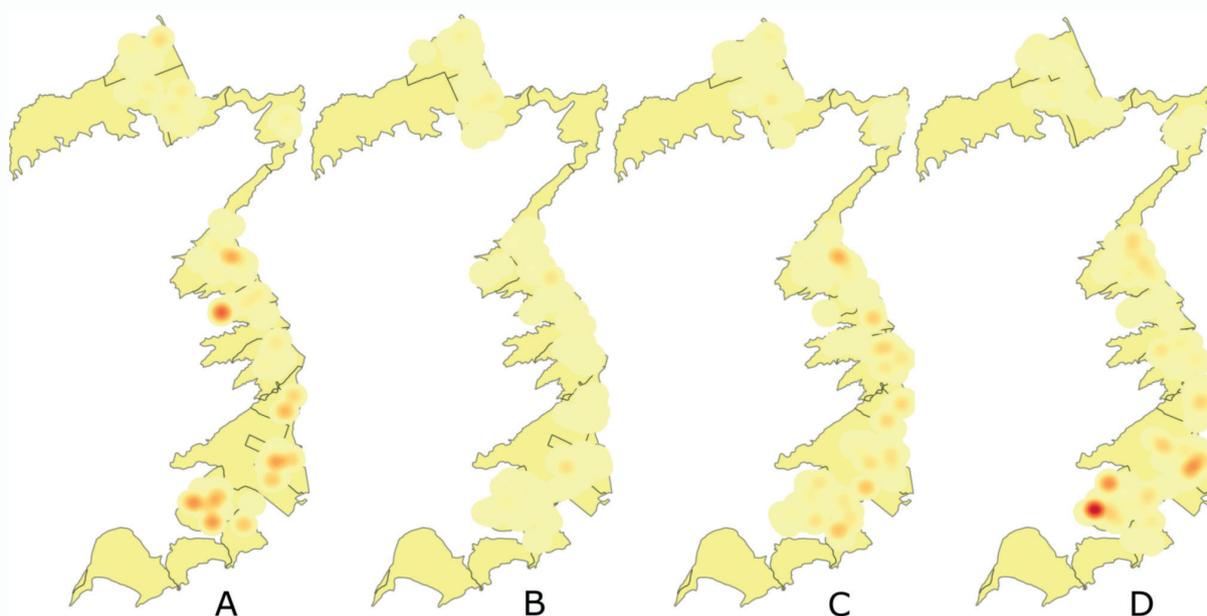


Figura 4. Mapas de Kernel de armadilhas positivas para ovos de *Ae. aegypti*, agrupados por quadrimestre: (A) fevereiro a maio de 2011, (B) junho a setembro de 2011, (C) outubro a dezembro de 2011 e janeiro de 2012, (D) fevereiro a maio de 2012. Município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, fevereiro de 2011 a julho de 2012

A distribuição espacial e temporal de *Ae. albopictus* foi diferente (Figura 5). No 1º quadrimestre a maior atividade do vetor é evidenciada ao norte do município e discreta na área sul. De junho a setembro a espécie não foi registrada (B), já no período seguinte, de outubro a dezembro de 2011 e janeiro de 2012, o mosquito ressurgiu com maior intensidade. Quanto ao último quadrimestre, observou-se redução dos pontos de aglomerados à área norte.

Observa-se nos mapas de *Ae. aegypti* e de *Ae. albopictus* que os pontos mais quentes de uma espécie não coincidem geograficamente com os da outra.

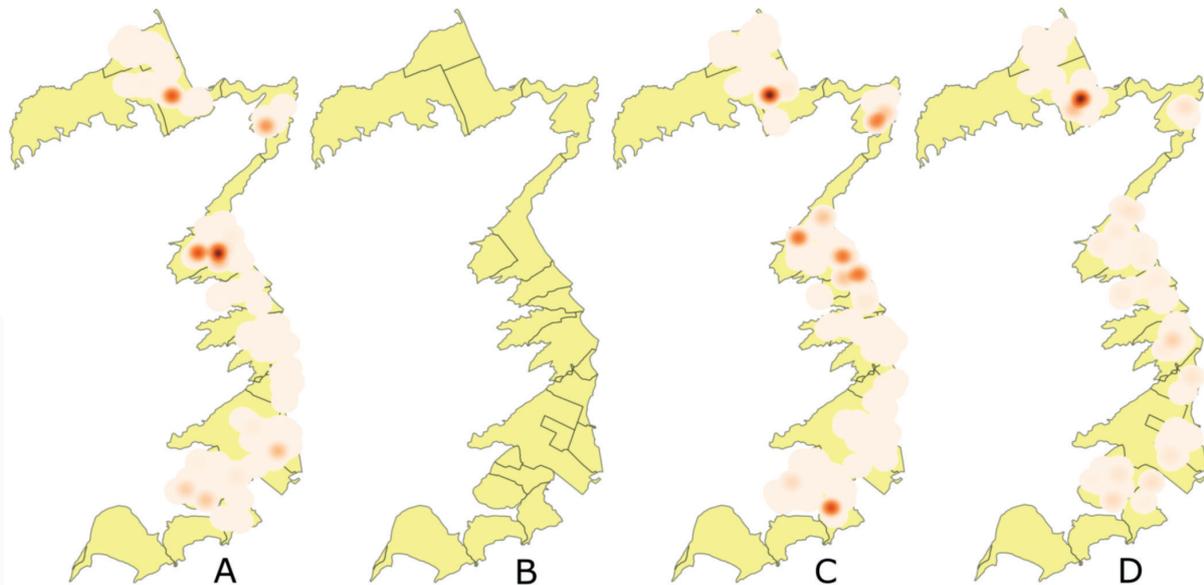


Figura 5. Mapas de Kernel da positividade de armadilhas para ovos de *Ae. albopictus*, agrupados por quadrimestre: (A) fevereiro a maio de 2011, (B) junho a setembro de 2011, (C) outubro a dezembro de 2011 e janeiro de 2012, (D) fevereiro a maio de 2012. Município de São Sebastião, litoral norte do estado de São Paulo, fevereiro de 2011 a julho de 2012

DISCUSSÃO

O tempo de observação, 18 meses, possivelmente seja a limitação do presente estudo, aliado ao fato de que o peridomicílio, local de instalação de 50% das armadilhas, tratou-se de área adjacente ao imóvel, o que possivelmente tenha favorecido *Ae. aegypti*.

A distribuição dos agrupamentos de maior densidade no ambiente urbano de São Sebastião foi distinta para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, o que sugere um padrão com tendência ao antagonismo, característico da segregação de habitat. Observam-se ainda agrupamentos de caráter persistentes e não persistentes das duas espécies, ao longo do tempo. A maior intensidade de infestação por *Ae. aegypti*, ao sul do município, justifica-se por se tratar de área de infestação mais antiga, mais urbanizada e densamente povoada, que embora esteja próxima a mata, não é permeada pela vegetação. Opostamente, *Ae. albopictus*, apresentou distribuição mais localizada, essencialmente na região ao norte, cujas características de ocupação do solo são opostas às descritas para a outra espécie.

Quanto à separação de ambientes, pesquisadores têm proposto que a maior presença desses *Aedes* está pautada em diferenças de habitat. Braks et al. (2003),⁶ no estudo ecológico dessas espécies no Sudeste do Brasil (Rio de Janeiro e Nova Iguaçu) e na Flórida (Palm Beach e Boca Raton) mostraram maior prevalência de *Ae. aegypti* em áreas

altamente urbanizadas, e de *Ae. albopictus* em áreas rurais, suburbanas e urbanas com vegetação. Os mesmos autores relataram que a densidade total das espécies na armadilha foi menor em Boca Raton, e atribuíram tais achados à diferença na disponibilidade local de recipientes artificiais e de acesso ao hospedeiro.

A não persistência de agrupamentos dos mosquitos, na estimativa de densidade, pode estar relacionada a áreas que sofreram pressão das atividades de controle vetorial, já que se trata de área com transmissão de dengue ininterrupta há mais de uma década. Por outro lado, a constatação de agrupamento de indivíduos no espaço pode representar um mecanismo favorecedor da coexistência, pois quando uma espécie competitivamente superior apresenta alto grau de agregação espacial, a chance de permanência de espécies inferiores aumenta, uma vez que locais deixados livres pelo ajuntamento daqueles poderão ser ocupados por outras espécies. Quando isso ocorre, a competição intraespecífica torna-se mais forte do que a competição interespecífica e, como resultado, obtém-se uma coexistência estável.²¹

No presente estudo, embora não tenha sido objetivo avaliar a densidade de cobertura vegetal da área pesquisada, foi possível notar que o ambiente urbano extrapola os limites das planícies invadindo as montanhas de ecossistema costeiro, cobertos de Mata Atlântica, nas regiões norte e sul do espaço geográfico. A área norte tem menor concentração humana, e é mais permeada por vegetação, características intrínsecas à maior valência ecológica de *Ae. albopictus*. Braks et al. (2003)⁵ mostraram que a presença dessa espécie está relacionada à densidade de cobertura vegetal, enquanto a de *Ae. aegypti* se dá em áreas mais densamente povoadas.

LaCon et al. (2014),²² em estudo de mudanças nos padrões de distribuição espacial de agrupamentos de *Ae. aegypti* no Peru, constataram um forte padrão urbano altamente focal, com evidências de que os pontos quentes da abundância do vetor, de caráter temporariamente instável, localizavam-se em pequenos grupos de casas. Os mesmos autores mencionaram que tal ocorrência de mudança espacial dos pontos quentes da abundância, ao longo do ano, impõe um desafio significativo para as estratégias de controle do vetor.

A constatação da instabilidade geográfica dos vetores aqui registrada sugere a não persistência de agrupamentos de sua presença, principalmente para *Ae. aegypti*. Os dados de distribuição apontados no primeiro quadrimestre do estudo, período das mais elevadas temperaturas e pluviosidade, corroboram a existência de diferenças na ocupação do ambiente, ou seja, segregação de habitat, uma vez que a maior presença de cada uma das

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

espécies se deu em áreas de características de ocupação e de cobertura vegetal distintas, condizentes com as exigências inerentes a cada espécie.

Segundo Leishman et al. (2014),³ a segregação espacial de habitat prediz a coocorrência de espécies se elas ocuparem e forem mais abundantes em habitats distintos. No presente estudo, mesmo com o predomínio de *Ae. aegypti* em relação a *Ae. albopictus*, na proporção de 87,00% para 13,00%, a coocorrência nas amadilhas foi observada em ¼ das vezes.

Os pontos mais quentes para as espécies estudadas mostraram ampla distribuição de *Ae. aegypti* no espaço urbano enquanto, opostamente, *Ae. albopictus* apresentou ocupação espacial mais restrita. Tais achados sugerem diferenças na proporção e distribuição espacial dessas espécies, o que pode estar relacionado a fatores do clima, estação do ano e local de ocorrência, a semelhança de Dhimal et al. (2015).²³

Além das diferenças de hábitat, a redução de atividade de *Ae. aegypti*, acompanhada da ausência de *Ae. albopictus*, no segundo quadrimestre avaliado, pode estar relacionada a época do ano, período de queda da pluviosidade e temperatura, situação menos favorável ao desenvolvimento dessas espécies. Serpa et al. (2006)²⁴ mostraram, em município do Vale do Paraíba paulista, a ocorrência de *Ae. aegypti* em todas as estações do ano, enquanto *Ae. albopictus* mostrou-se mais sensível aos fatores ambientais, apresentando correlação significativa para pluviosidade e temperatura máxima. Juliano et al. (2004)¹² sugeriram que o período de queda da pluviosidade e de temperatura afeta negativamente a atividade desses mosquitos, em especial de *Ae. albopictus*, possivelmente por maior mortalidade de ovos. Esses autores e Miyasaki et al. (2009),²⁵ mencionaram que a chuva constitui importante variável meteorológica para populações de vetores desde que eles utilizem criadouros localizados no peridomicílio, o que é mais perceptível em regiões com estação climática definida, condição esta que difere daquela existente na área de estudo. O município de São Sebastião se encontra em região tropical chuvosa, sem estação seca definida e com ocorrência de chuvas frequentes. Por outro lado, os efeitos da temperatura foram anteriormente constatados sobre o comportamento de oviposição dessas espécies, na mesma área de estudo, sendo mais expressivo em *Ae. albopictus*.⁷

A alteração espacial de alguns pontos de aglomerados, verificados para *Ae. aegypti*, de outubro de 2011 a janeiro de 2012, sugere comportamento de segregação de habitat, produto da competição interespecífica possivelmente atuante no local. Uma linha de pensamento na Ecologia argumenta que a ação de distúrbios e flutuações ambientais é um componente majoritário na estruturação de comunidades, por afastar o sistema

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

do equilíbrio e evitar efeitos deletérios da competição e outras interações antagônicas dependentes de densidade.¹³ Delatte et al. (2008),²⁶ em estudo da distribuição geográfica e locais de desenvolvimento de *Ae. aegypti*, durante epidemia de chikungunya, em uma ilha do leste de Madagascar, mostraram que a colonização de habitats urbanos por *Ae. albopictus* se deu especialmente na ausência de *Ae. aegypti*.

Para o último período do estudo, fevereiro a maio de 2012, mesmo com a aparente redução de expressividade de ambas as espécies, observou-se um padrão de ocupação espacial nitidamente distinto, à semelhança do ocorrido no primeiro quadrimestre (fevereiro a maio de 2011) pesquisado. A segregação espacial verificada pode ser resultante da heterogeneidade no suprimento de recursos ou nos fatores físicos, conforme apontado por Giacomini.¹¹ Reiskind e Lounibos (2013)²⁷ mostraram, em estudo na Flórida, que a ocorrência de segregação de habitats costeiros urbanos, para as mesmas espécies, ocorre em momentos distintos, *Ae. aegypti* no período inicial da estação chuvosa e *Ae. albopictus* no final dessa e na estação seca. Little et al. (2011),²⁸ no estudo do padrão de coocorrência de *Ae. aegypti* e *Aedes mediovittatus*, mosquito competente para dengue em Puerto Rico, mencionaram que o mapeamento de espaços é importante no planejamento da urbanização, pois podem representar áreas de alto risco de transmissão da dengue durante os períodos inter epidêmicos.

A habilidade da espécie em se deslocar entre áreas distintas atua como um facilitador da coexistência com outras.¹¹ Diferentes autores registraram a coexistência larval desses *Stegomyia*, em várias regiões do mundo.^{1,5,6,24} Na presente investigação, embora o registro da sobreposição dos pontos mais quentes não tenha sucedido repetidamente, no geral houve coincidência de alguns dos pontos de aglomerados, o que sugere um provável padrão de dominância operante resultante de competição, corroborando a indicação de distribuição espacial antagônica.

Larvas de *Ae. albopictus* coocorrem e competem com larvas de *Ae. aegypti* em artefatos desenvolvidos pelo homem.²⁹ Segundo Rey & Lounibos (2015),¹ tal convívio, pode favorecer a segregação de hábitat nessas espécies, de maneira a evitar a competição direta.

O padrão de dominância resultante dessa convivência, possivelmente seja determinado pelas condições abióticas encontradas nos diversos ambientes frequentados.¹² Passos et al., (2003),³⁰ na mesma área do presente estudo, apontaram uma provável dominância de *Ae. aegypti* sobre a população de *Ae. albopictus*, o que levaria a substituição ou deslocamento de uma espécie pela outra, induzindo *Ae. albopictus* à ocupação de outro ambiente como

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

hábitat preferencial, desenvolvendo-se em criadouros naturais em ambiente silvestre. Os autores mostraram que *Ae. aegypti* foi predominante nas áreas urbanas, enquanto *Culex quinquefasciatus* foi mais prevalente em área suburbanas. O predomínio de *Ae. aegypti* em áreas urbanas densamente povoadas e a superioridade de *Ae. albopictus*, em áreas mais rurais, sugerem que a coocorrência seja mais frequente em áreas suburbanas.⁵

O convívio de espécies de mosquitos é de grande interesse epidemiológico, pois pode interferir na melhor aptidão dos indivíduos vetores de vírus, inclusive na transmissão de patógenos.³¹

CONCLUSÕES

Houve segregação de hábitat de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em São Sebastião (SP). Tal evento pode ser resultante da influência das características ambientais locais e interação das espécies, fatores estes que contribuem para os padrões de distribuição e abundância constatados. Os achados aqui registrados são importantes para o planejamento das atividades de vigilância e controle vetorial, pois podem representar áreas de alto risco de transmissão da dengue.

Estudos futuros poderiam determinar as condições facilitadoras da coocorrência local, assim como o padrão de dominância dessas espécies, de acordo com características próprias de cada região.

O presente estudo teve o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Nº 53123-7/2009) e da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen), da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES/SP), Brasil (Nº 000005/2011).

Extraído da tese apresentada no ano de 2014, na Coordenadoria do Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, intitulada “Oviposição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em município com transmissão de dengue, Estado de São Paulo, Brasil”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rey JR, Lounibos P. Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión enfermedades. *Biomedica*. 2015;35(2):177-85.
2. Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GG, Strickman D, Kittayapong P, et al. Longitudinal studies of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: blood feeding frequency. *J Med Entomol*. 2000;37(1):89-101.
3. Leishnam PT, LaDeau SL, Juliano SA. Spatial and Temporal Habitat Segregation of Mosquitoes in Urban Florida. *PLoS ONE*. 2014;9(3): e91655.
4. Couto-Lima D, Madec Y, Bersot MI, Campos SS, Motta MA, Santos FB, et al. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. *Sci Rep*. 2017;7:4848.
5. Juliano SA, O'Meara GF, Morrill JR, Cutwa MM. Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. *Oecologia*. 2002;130(3):458-69.
6. Braks MAH, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA, Lounibos LP. Convergent Habitat Segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Southeastern Brazil and Florida. *J Med Entomol*. 2003;40(6):785-94.
7. Serpa LLN, Marques GRAM, Lima AP, Voltolini JC, Brito-Arduino M, Barbosa GL, et al. Study of the distribution and abundance of the eggs of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* according to the habitat and meteorological variables, municipality of São Sebastião, São Paulo State, Brazil. *Parasites & Vectors*. 2013;6(1):321.
8. Prophiro JS, Silva OS, Luna JED, Piccoli CF, Kanis LA, Navarro MAS. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. *R Soc Bras Med Trop*. 2011;44(3):300-5.
9. Serpa LLN, Kakitani I, Voltolini JC. Competição entre larvas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em laboratório. *R Soc Bras Med Trop*. 2008;41(5):479-84.
10. Costanzo KS, Mormann K, Juliano SA. Asymmetrical competition and patterns of abundance of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 2005;42(4):559-70.
11. Giacomini HC. Os mecanismos de coexistência de espécies como vistos pela teoria ecológica. *Oecol Bras*. 2007; 11(4):521-43.
12. Juliano SA, Lounibos LP, O'Meara GF. A field test for competitive effects of *Aedes albopictus* on *A. aegypti* in South Florida: differences between sites of coexistence and exclusion? *Oecologia*; 2004;139(4):583-93.

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

13. Costanzo KS, Kesavaraju B, Juliano AS. Condition-specific competition in container mosquitoes: the role of non-competing life-history stages. *Ecology*. 2005;86(12):3289-95.
14. Rodrigues MM, Marques GRAM, Serpa LLN, Arduino MB, Voltolini JC, Barbosa GL et al. Density of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and its association with number of residents and meteorological variables in the home environment of dengue endemic area, São Paulo, Brazil. *Parasites & Vectors*. 2015;8:115.
15. Brasil. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico: Domicílios de São Sebastião 2010. São Paulo; 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/>.
16. Setzer J. Atlas Climático e Ecológico do Estado de São Paulo [atlas]. São Paulo; 1966.
17. Alves MCGP, Silva NN. Simplificação do método de estimação da densidade larvária de *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo. *Rev Saúde Pública* 2001;35(5):467-73.
18. Silva RA. Manual de Vigilância Entomológica de *Aedes aegypti*. Sucen – SES. São Paulo; 1997. 38p.
19. São Paulo. Superintendência de Controle de Endemias – Sucen - Secretaria de Estado da Saúde. Vigilância e Controle do *Aedes aegypti*: normas, orientações e recomendações técnicas. São Paulo; 2006.42p.
20. Bailey TC, Gatrell AC. Interactive Spatial Data Analysis. London (UK): Harlow Essex: Longman Scientific & Technical; 1995.
21. Hanski I. Coexistence of competitors in patchy environment with and without predation. *Oikos*. 1981; 37(3):306-12.
22. LaCon G, Morrison AC, Astete H, Stoddard ST, Paz-Soldan VA, Elder JP, et al. Shifting Patterns of *Aedes aegypti* Fine Scale Spatial Clustering in Iquitos, Peru. *PLoS Negl Trop Dis*. 2007;8(8):e3038.
23. 23. Dhimal M, Gautam I, Joshi HD, O’Hara RB, Ahrens B, Kuch.U. Risk Factors for the Presence of Chikungunya and Dengue Vectors (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*), Their Altitudinal Distribution and Climatic Determinants of Their Abundance in Central Nepal. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(3):e0003545.
24. 24. Serpa LLN, Costa KVRM, Voltolini JC, Kakitani I. Variação sazonal de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de Potim, São Paulo. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(6):1101-5.
25. 25. Mogi M, Khamboonruang C, Choochote W, Suwanpanit P. Ovitrap surveys of dengue vector mosquitoes in Chiang Mai, Northern Thailand: seasonal shifts in relative abundance of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti*. *Med Vet Entomol*. 1988; 2(4):319-24.
26. 26. Delatte H, Dehecq JS, Thiria J, Domerg C, Paupy C, Fontenille D. Geographic distribution and developmental sites of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) during a chikungunya epidemic event. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2008;8(1):25-34.

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

27. Reiskind MH, Lounibos LP. Spatial and temporal patterns of abundance of *Aedes aegypti* L. (*Stegomyia aegypti*) and *Aedes albopictus* (Skuse) [*Stegomyia albopictus* (Skuse)] in southern Florida. *Med Vet Entomol.* 2013;27(4):421-9.
 28. Little E, Barrera R, Seto KC, Diuk-Wasser M. Co-occurrence Patterns of the Dengue Vector *Aedes aegypti* and *Aedes mediovitattus*, a Dengue Competent Mosquito in Puerto Rico. *Ecohealth.* 2011;8(3):365-75.
 29. Carvalho RG, Lourenço-de-Oliveira R, Braga IA. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014;109(6):787-96.
 30. Passos RA, Marques GRAMM, Voltolini JC, Condino ML. Dominância de *Aedes aegypti* sobre *Aedes albopictus* no litoral sudeste do Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2003;37(6):729-34.
 31. Juliano SA. Species interactions among larval mosquitoes: context dependence across habitat gradients. *Annu Rev Entomol.* 2009;54:37-56.
-

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil/ Serpa LLN et al.

Artigo especial

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo*

Integrative and Complementary Practices in Health standing out in the Health Promotion scenario in the State of São Paulo

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo*

Integrative and Complementary Practices in Health standing out in the Health Promotion scenario in the State of São Paulo

Marco Antonio de Moraes^[1]  <https://orcid.org/0000-0001-9834-5960>; Golda Schwartzman^[1]; Lilian Maria Cobra^[1]; Ricardo Ghelman^[2]; Gelza Matos Nunes^[2]; Caio Fábio Portela^[2]

^[1]Divisão de Doenças Crônicas Não Transmissíveis. ^[2]Consórcio Acadêmico Brasileiro de Saúde Integrativa

INTRODUÇÃO

As terapias complementares são milenares como tradições em vários países, porém, a área da saúde integrativa centrada na pessoa e baseada em evidências científicas se origina nos sistemas públicos de saúde, de uma forma mais sistematizada, somente no final da década de 1970, por ocasião da 1ª Conferência Internacional de Assistência Primária à Saúde, ocorrida em Alma Ata em 1978, quando surgem recomendações iniciais para implantação destas referidas práticas complementares. A partir de então difundiu-se em todo o mundo, e em nosso país começa a ganhar força a partir da 8ª Conferência Nacional de Saúde, realizada em 1986, apresentando relativa expansão a partir desta data. No entanto, somente no ano de 2006 é aprovada a Política Nacional das Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), incorporando ao SUS as 29 Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS) pelo Ministério da Saúde (MS).^{1,2}

*Revisão:

Regiane Cardoso de Paula – Doutora em Ciências Aplicadas à Saúde, Epidemiologista pelo Fall Institute in Health Policy and Management, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Graduada em Biomedicina. Atual Coordenadora de Saúde da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo e Coordenadora Geral do Plano Estadual de Imunização-PEI COVID-19 da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Tatiana Lang D'Agostini – Mestre em Saúde Coletiva, Especialista em Patologia Clínica, Graduada em Biomedicina. Atual Diretora Técnica em Saúde do Centro de Vigilância (CVE) da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo-SES/SP.

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo/
Moraes MA, Schwartzman G, Cobra LM, Ghelman R, Nunes GM, Portela CF

As últimas décadas registraram um crescimento do reconhecimento das medicinas tradicionais, complementares e integrativas (MTCI) no mundo, termo adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Até 1999, apenas 25 Estados-membros da OMS tinham uma política nacional de regulação sobre o tema. Atualmente, 98 dos 194 Estados-membros da OMS têm uma política nacional, nas seis regiões do mundo, de forma que a PNPIC já faz parte de um movimento mundial de implementação desta nova forma inclusiva de cuidado em saúde que tem caráter complementar e integrativo.³

O cenário de transição epidemiológica que surgiu há mais de 40 anos, em que as doenças crônicas e degenerativas se destacam como principal causa de morbimortalidade mundial, determina uma mudança de paradigma na saúde pública, levando a promoção da saúde a se revelar como uma estratégia prioritária, onde determinantes ambientais e de estilo de vida se revelam com maior significância, trazendo questionamentos em relação à eficácia da biomedicina como modelo único de atenção à saúde, trazendo consequentemente uma ampliação do interesse da sociedade ocidental para a saúde integrativa.⁴

As PICS podem ser definidas como um grupo de racionalidades em saúde de caráter tradicional, como as milenares ayurveda e medicina tradicional chinesa, e não-tradicionais como a homeopatia e antroposofia aplicada à saúde; modalidades terapêuticas não-medicamentosas como yoga, meditação, terapia comunitária integrativa, musicoterapia, shantala; e produtos naturais como uso de óleos essenciais na aromaterapia, e plantas medicinais que fogem do padrão das intervenções biomédicas convencionais, e que adotam uma forma de cuidado centrada nas pessoas, embasados em evidências científicas e empregadas de forma integrada aos sistemas de saúde de forma complementar. Estas práticas buscam por meio de mecanismos naturais a profilaxia de doenças e agravos e também a promoção da saúde,⁵ e fornecem uma perspectiva holística e integral sendo visualizadas como um instrumento valioso fortalecendo o processo saúde-doença e oferecendo maior empoderamento ao usuário do sistema de saúde em uma perspectiva multiprofissional e interdisciplinar.⁶

No sistema único de saúde (SUS) de nosso país iniciamos a inclusão dessas referidas práticas em 2006, com a aprovação de 05 PICS, sendo que no ano de 2017 houve a ampliação de mais 14 e em 2018 de mais 10, possuindo hoje um total de 29 práticas aprovadas por meio de políticas de saúde pública e outros marcos regulatórios.⁶

Atualmente evidenciamos na literatura um crescimento exponencial nos últimos 20 anos do uso das MTCI/PICS, na atenção hospitalar de alta complexidade, principalmente

em países desenvolvidos, como Estados Unidos, Europa e países do Leste Asiático, regiões de maior produção de publicações na área. A literatura corrente indica que também em países em desenvolvimento e de menor poder aquisitivo como Brasil, México, Cuba e Índia, estas modalidades terapêuticas vem se mostrando como um elemento significativo no tratamento dos usuários dos diferentes sistemas de saúde, com ênfase na atenção primária, ampliando o olhar sobre o ser humano, os processos saúde-doença e a promoção da saúde.^{1,7}

Apesar de possuímos, no território brasileiro, um número relevante de publicações científicas tanto na área das PICS como na área da Promoção da Saúde, sendo que ambas têm crescido e se fortalecido praticamente em paralelo nas últimas décadas, a exploração acadêmica no campo das PICS, estritamente correlacionada ao campo da Promoção da Saúde, ainda se encontra bastante insipiente apresentando poucas publicações em nosso território nacional direcionando-nos à presente publicação.^{5,8,9}

Diferentes denominações são apresentadas na literatura mundial sobre estas práticas terapêuticas, porém, no Brasil, a expressão mais comum e oficialmente utilizada é a de Práticas Integrativas e Complementares de Saúde-PICS,⁹ destacando que são terapias não-alternativas e sim complementares. Conforme a OMS enfatiza, essas terapias não substituem o tratamento convencional, sendo indicados como complementares aos outros tratamentos, estimulando o uso de métodos naturais de prevenção e recuperação, enfatizando o desenvolvimento do vínculo terapêutico, integração do ser humano com a natureza, buscando uma visão ampliada do processo saúde-doença e a promoção da saúde, assim como complementando tratamentos biomédicos convencionais.⁹

A relação das PICS com a área de Promoção da Saúde pode ser facilmente observada tendo em vista que a promoção da saúde pode ser compreendida como um campo de propostas, ideias e práticas, crescente na saúde pública, que parte da concepção ampla do processo saúde-doença e de seus determinantes, e propõe a articulação de saberes técnicos e populares e a mobilização de recursos institucionais e comunitários, públicos e privados, para seu enfrentamento e resolução.⁹

A Promoção da Saúde tende a promover um diálogo mais abrangente e integral, diferente do modelo atual biologicista, voltado para as especialidades e para fragmentação do conhecimento, e é capaz de estimular a ruptura da ciência moderna pautada nos microorganismos e no meio como determinante das doenças.^{7,10}

Tendo em vista a sincronicidade na percepção do governo federal da necessidade de estruturar a promoção da saúde e integrar a medicina moderna às práticas de saúde não

convencionais na atenção primária à saúde, o MS lançou a Política Nacional de Atenção Básica (PNAB) e a Política Nacional de Promoção da Saúde (PNPS), apenas alguns meses de antecedência da aprovação da PNPIC.

Salientamos que as PICS paulatinamente se tornaram uma realidade e se associaram fortemente com a área de atenção à saúde, com ênfase na promoção da saúde. No ano de 2006 foi aprovado inicialmente a PNAB publicada pela portaria ministerial 648, de 28 de março de 2006 revisada em 21/08/2017 pela portaria ministerial nº 2.436. Também no ano de 2006, em 30/03/2006 foi instituída a Portaria MS/GM nº 687 sobre a PNPS revisada em 11/11/2014 pela portaria ministerial 2.446, e em 03/05/2006 ocorre a aprovação e publicação da portaria ministerial nº 971 que lança a PNPIC.

Com isso notamos que neste ano de 2021 comemoramos os 15 anos das PNAB, PNPS e PNPICS, ano em que já se iniciaram as comemorações com diferentes publicações e eventos nestas três áreas.¹¹⁻¹³

No Sistema de Saúde, é na área da atenção básica que se insere as principais ações de promoção da saúde e das práticas integrativas e complementares em saúde, sendo a PNAB reconhecida como a política mãe da PNPS e da PNPIC.⁵

A Atenção Básica considera o sujeito em sua singularidade, na complexidade, na integralidade e na inserção sociocultural e busca a promoção de sua saúde, a prevenção e tratamento de doenças e a redução de danos ou de sofrimentos que possam comprometer suas possibilidades de viver de modo saudável.¹¹

A promoção da saúde vem sendo discutida desde o processo de redemocratização do Brasil, no qual a 8ª Conferência Nacional de Saúde se constitui como o grande marco da luta pela universalização do sistema de saúde e pela implantação de políticas públicas em defesa da vida, tornando a saúde um direito social irrevogável, como os demais direitos humanos e de cidadania.¹²

A Promoção da Saúde possui como princípios a equidade, a intersetorialidade, o empoderamento a participação social, a sustentabilidade, a autonomia e a integralidade,¹⁴ princípios estes que também são seguidos pelas PICS.

Nesses contextos, foi construída a PNPIC inclusiva, pautada na atenção primária e promoção da Saúde. As demandas de regulamentação no Brasil da Saúde estão presentes desde a criação do SUS, em 1988, por meio das demandas da sociedade – colocadas em inúmeras Conferências Nacionais de Saúde, que solicitava a inclusão de práticas não convencionais.⁵

De acordo com a PNPIC, a introdução dessas práticas na área da saúde coletiva se justifica principalmente pela garantia do princípio da integralidade. Dessa forma, seu principal objetivo é atender a necessidade de conhecer, apoiar e incorporar as experiências com PICS já em andamento na rede pública de saúde estimulando os mecanismos naturais de prevenção, recuperação e promoção da saúde.⁴

A relação das PICS com a PNPS pode ser facilmente notada, considerando que a promoção da saúde pode ser definida como um campo de propostas, ideias e práticas, crescentes na saúde pública, que parte de uma concepção ampla do processo saúde-doença e de seus determinantes, e propõe a articulação de saberes técnicos e populares e a mobilização de recursos institucionais e comunitários, públicos e privados, para seu enfrentamento e resolução.¹⁵

A atenção primária à saúde e a promoção da saúde são estratégias que comportam afinidades eletivas/aspectos comuns que se potencializam em um contexto de interação se apresentando como campos férteis para oferta das PICS.⁴

As PICS, além de promoverem a redução dos custos, têm se mostrado eficazes e investido na promoção da saúde e na educação em saúde, contribuindo para evitar que a doença se instale e que suas consequências sejam muito graves.⁷

Torna-se importante ressaltar que formas simplificadas e não invasivas, tecnologias leves em saúde, acesso aos medicamentos provenientes de produtos naturais e uma proposta ativa de promoção da saúde baseada na mudança de estilo de vida, justificam há algumas décadas um favorecimento positivo da implementação no SUS ao uso de recursos terapêuticos das PICS, pois os mesmos vem se mostrando custo-efetivos e mais acessíveis.^{7,10}

O cenário das PICS no Estado de São Paulo

As ações das PICS, nas diversas unidades de saúde do estado de São Paulo, já são desenvolvidas há várias décadas, porém somente em período recente observamos uma maior sistematização a partir do fortalecimento e oficialização dessas referidas práticas na atenção e vigilância à saúde, quando a Divisão de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DVDCNT) do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES/SP) inicia, no ano de 2019, uma atuação mais organizada, que refletiu em um maior aprofundamento sobre esta temática ecoando em resultados positivos para

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo/
Moraes MA, Schwartzman G, Cobra LM, Ghelman R, Nunes GM, Portela CF

a SES/SP. Em 2020, foi aprovada e publicada oficialmente no Diário Oficial do Estado, por meio da portaria CVE nº 04, a criação e constituição da Coordenação de Promoção da Saúde, na qual se localiza a área das práticas integrativas e complementares de saúde em vigilância epidemiológica.

No ano de 2020, a área de Promoção da Saúde da DVDCNT realizou várias reuniões com o Ministério da Saúde, assim como uma Webconferência sobre a importância da intersectorialidade no desenvolvimento das ações das PICS, também se une ao Grupo Técnico Interprofissional e com a Área da Saúde Mental da SES/SP, e com o Consórcio Acadêmico Brasileiro de Saúde Integrativa (CABSIN), objetivando o fortalecimento das PICS no estado de São Paulo.

Em 29 de junho de 2020 o Plenário do Conselho Estadual da Saúde de São Paulo (CES/SP) instituiu junto à Comissão de Políticas de Saúde e acompanhamento dos instrumentos de planejamento, o Grupo de Trabalho Intersectorial de Promoção, Proteção e Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (GTPICS), que aprovou por unanimidade na 309ª Reunião ordinária do Plenário do CES, realizada em 31 de maio de 2021 as diretrizes para o embasamento da futura lei de política estadual de práticas integrativas e complementares no SUS para o estado de São Paulo (PEPIC-SP), contando com a assessoria técnica da área de coordenação de promoção da saúde da DVDCNT/SES/SP.

Também nesse período iniciou-se um diagnóstico situacional das PICS no estado de São Paulo que se encontra em fase final de conclusão, mas que já conta com um mapeamento das PICS em nosso estado devido a levantamentos anteriores realizados pelo Ministério da Saúde apontando que o estado de São Paulo se destaca em 2º lugar no número de municípios que registram esse tipo de prática no SUS/SP, após o Estado de Minas Gerais, conforme demonstrado na Quadro 1.

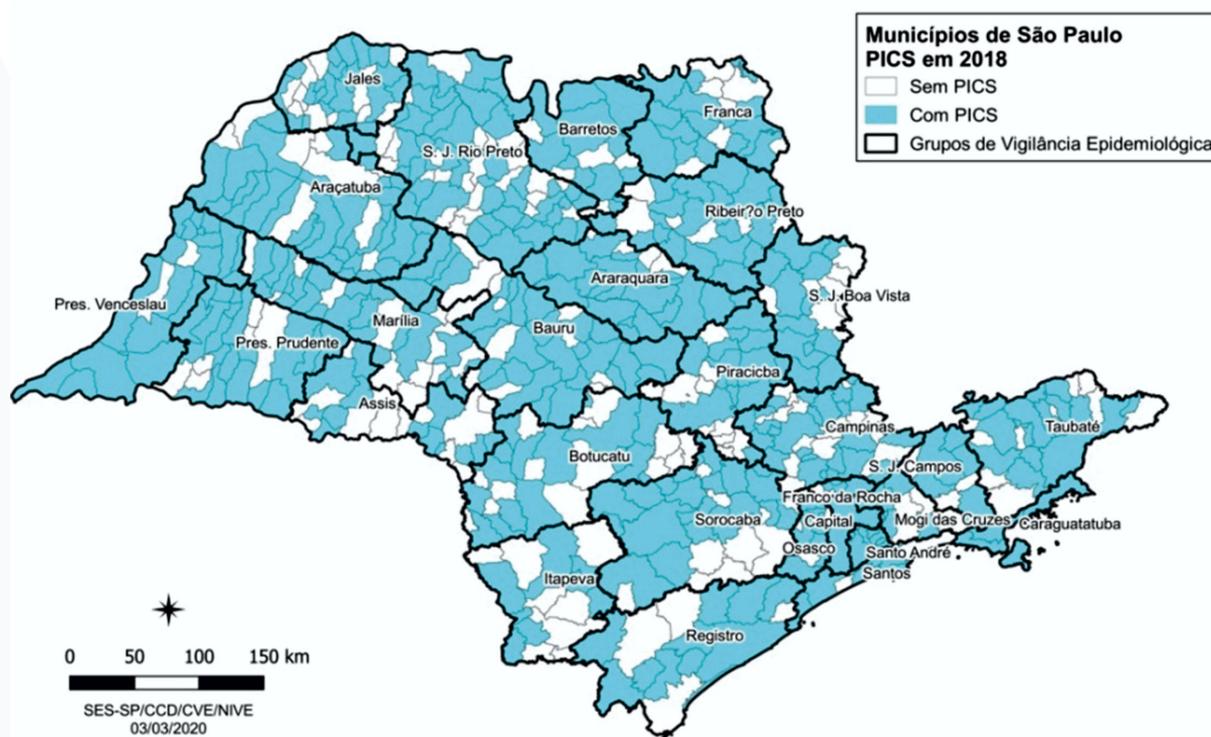
Quadro 1. Quantidade de municípios brasileiros com oferta de PICS estratificado por estado, para o período de 2017 a 2019. Brasil, 2019

Estado	Ano 2017	Ano 2018	Ano 2019
Acre	16	20	19
Alagoas	93	89	94
Amazonas	51	55	55
Amapá	12	14	16
Bahia	360	360	373
Ceará	158	159	165
Distrito Federal	1	1	1
Espírito Santo	56	60	56
Goiás	165	173	170
Maranhão	177	179	169
Minas Gerais	601	626	646
Mato Grosso Sul	65	67	70
Mato Grosso	106	112	109
Pará	116	126	120
Paraíba	157	161	176
Pernambuco	169	169	173
Piauí	152	156	161
Paraná	187	197	229
Rio de Janeiro	77	74	81
Rio Grande do Norte	144	141	141
Rondônia	36	44	43
Roraima	10	13	13
Rio Grande do Sul	296	324	357
Santa Catarina	226	242	245
Sergipe	64	65	59
São Paulo	396	440	454
Tocantins	103	92	102
Total de Municípios	3.994	4.159	4.297

Fonte: MS-2020

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo/
 Moraes MA, Schwartzman G, Cobra LM, Ghelman R, Nunes GM, Portela CF

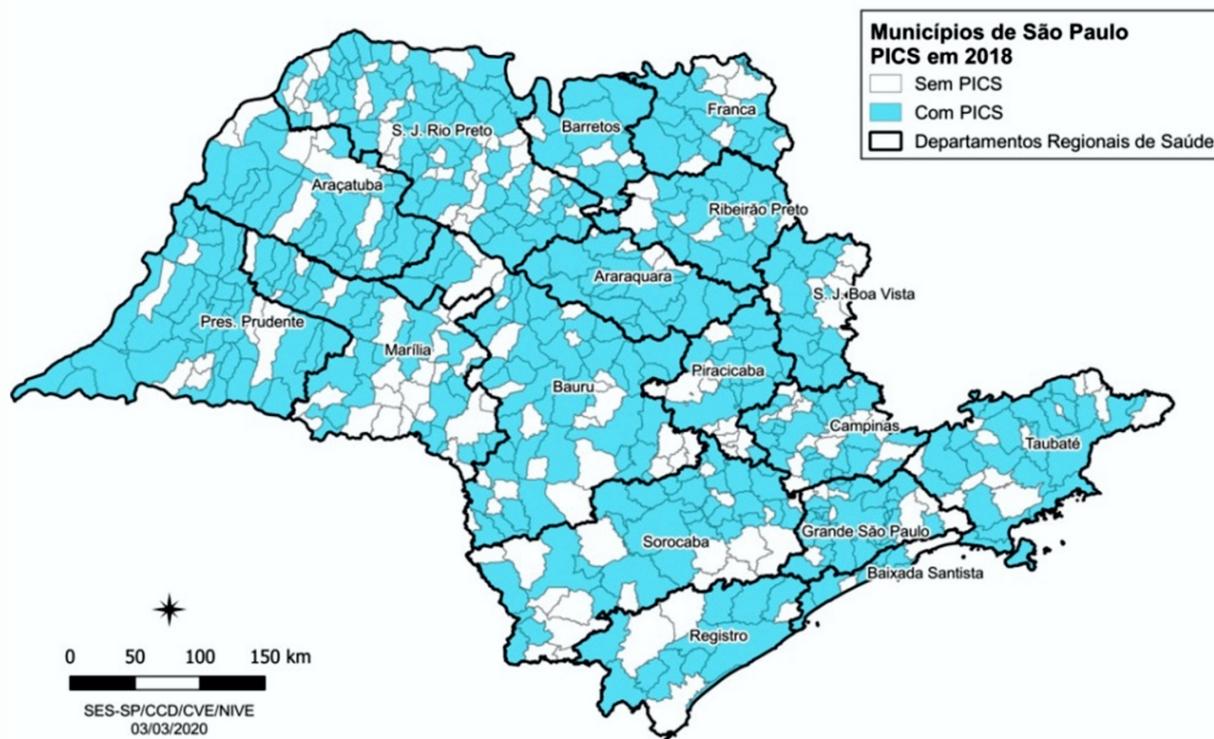
As figuras 01 e 02 demonstram a distribuição dos municípios do estado de São Paulo, pelos Grupos Técnicos de Vigilância Epidemiológica (GVE) e pelos Departamentos Regionais de Saúde (DRS), em que observamos que estas práticas se encontram pulverizadas amplamente em todos estes territórios onde se aplicam as principais ações de saúde nas áreas de vigilância epidemiológica e atenção à saúde.



Fonte: NIVE/SES/SP

Figura 1. Distribuição dos municípios do estado de São Paulo **por grupo técnico** de vigilância em saúde que realizam alguma(s) das práticas integrativas e complementares em saúde, no ano de 2018

Mais recentemente, durante este ano de 2021, a Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo inicia a participação no “Repositório Informação para ação: construção participativa para a qualificação da gestão das PICS no SUS” que vem sendo coordenada pela Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ-Instituto Aggeu Magalhães, objetivando reunir e disponibilizar informações com base em pesquisas e levantamentos de dados para subsídio à qualificação da implementação das PICS no âmbito do Estado de São Paulo por meio de seus 645 municípios. Com a construção da “Comunidade de Práticas Integrativas” do Programa IdeiaSUS da Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ/Manguinhos em parceria com o Consórcio Acadêmico Brasileiro de Saúde Integrativa (CABSIN), as experiências têm sido registradas e esperamos que a fase de avaliação de impacto com instrumentos quantitativos possa ser implementada em um futuro próximo.



Fonte: NIVE- SES/SP

Figura 2. Distribuição dos municípios do estado de São Paulo por regional de saúde que realizam alguma(s) das práticas integrativas e complementares em saúde, no ano de 2018

CONCLUSÕES

As PICS consistem em sistemas e recursos úteis na promoção da saúde, pois apresentam como um enorme valor a escuta acolhedora, a integração do indivíduo com o meio em que vive, o desenvolvimento de vínculo terapêutico e, sobretudo, porque estabelecem uma nova compreensão do processo saúde-doença, em que se destaca a perspectiva multidimensional do ser humano e o empoderamento individual com impacto na vida cotidiana dos sujeitos. Contudo para potencializar as práticas no campo da promoção da saúde e do cuidado no SUS é preciso superar os desafios referentes a uma prática setORIZADA, com uma trajetória histórica tendente a ficar limitada, restrita e de difícil acesso.

A inserção das PICS no SUS se apresenta como uma ação de ampliação de acesso, regulamentação e qualificação dos serviços prestados, profissionais e produtos na integralidade da atenção a saúde da população e da promoção da saúde. Ainda é considerado um importante desafio para os gestores públicos na área da promoção da saúde

As Práticas Integrativas e Complementares em Saúde se destacando no cenário de Promoção da Saúde no Estado de São Paulo/
Moraes MA, Schwartzman G, Cobra LM, Ghelman R, Nunes GM, Portela CF

necessitando de criação de áreas físicas específicas para esta finalidade; de uma maior viabilização da formação e qualificação dos profissionais em número adequado para atuar no SUS; fornecimento adequado de insumos materiais e medicamentosos, ampliação e implementação de pesquisas em PICS, assim como de ações de monitoramento, avaliação, e defesa pública nos conselhos de saúde e outras instâncias do poder público. Enfim, precisamos estabelecer, regulamentar e cumprir um maior número de ações voltadas ao desenvolvimento e avanço das PICS no SUS garantindo assim o fortalecimento desta área buscando promover a integralidade do cuidado por meio da promoção da saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pennafort VPS, Freitas CHA, Jorge MSB, Queiroz MVO, Aguiar CAA. Práticas Integrativas e o Empoderamento da Enfermagem, Rev Min da Enferm 16(2): 289-295, abr. – junho 2012.
2. Junior ET. Práticas Integrativas e Complementares em Saúde, uma nova eficácia para o SUS. Rev. Estud. Av. 30 (86): 99-112. São Paulo, 2016.
3. *Relatório Global 2019 sobre medicinas tradicionais e complementares da OMS.* Disponível em <https://www.who.int/traditional-complementary-integrative-medicine/WhoGlobalReportOnTraditionalAndComplementaryMedicine2019.pdf> Acesso em 30 ago 2021.
4. Habimoral PHL et al. Potencialidades e fragilidades de implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares. Ciência & Saúde Coletiva, 25 (2): 395-405, 2020.
5. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Secretaria de Atenção à Saúde. Relatório do 1º Seminário Internacional de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde – PNPIC. Brasília, DF: MS; 2009.
6. Aguiar J, Kanan LA, Masiero A V. Práticas Integrativas e Complementares na atenção básica em saúde: um estudo bibliométrico da produção brasileira. Saúde Debate. 43(123): 1205-18, 2019.
7. Ischkanian PC, Pelicioni MCF. Desafios das práticas integrativas e complementares no SUS visando a Promoção da Saúde. Rev Brasileira de Crescimento Desenvolvimento Humano. 2012; 22(2): 233-8.
8. Tesser CD. Práticas complementares, racionalidades médicas e promoção da saúde: contribuições pouco exploradas. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 25(8): 1732-42, Agosto/2009.

9. Lima KMSV, Silva KL, Tesser CD. Práticas Integrativas e Complementares e relação com promoção da saúde: experiência de um serviço municipal de saúde. Interface Comun. Saúde educ. 18(49): 261-72. Abr-Jun/2014.
 10. Souza EFAA, Luz MT. Bases sócias culturais das práticas terapêuticas alternativas. História, Ciências, Saúde – Manguinhos, Rio de janeiro 2009: 16 (2): 393-405.
 11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Atenção Básica/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Série Pactos pela Saúde 2006, v. 4) ISBN 85-334-1186-3.
 12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Política Nacional de Promoção da Saúde: PNaPS: revisão da Portaria MS/GM nº 687, de 30 de março de 2006/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância à Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 32 p.
 13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS/ Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 92 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).
 14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de análise em Saúde e Doenças não Transmissíveis. Promoção da Saúde: aproximações ao tema: caderno1 [recurso eletrônico]/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Doenças Não Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
 15. Buss PM. Promoção da Saúde e qualidade de vida. Cienc Saude Colet. 2000; 5(1): 163-77.
-

Informe técnico

Meningites Bacterianas: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos

Bacterial Meningitis: Diagnosis and Laboratory Characterization of the Etiological Agents

Meningites Bacterianas: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos

Bacterial Meningitis: Diagnosis and Laboratory Characterization of the Etiological Agents

Bernadete L. Liphaus^[1], Rosimeire Cobo Zanella^[2], Ana Paula S. Lemos^[2], Samanta C. G. Almeida^[2], Erica Chimara^[2], Roberta M. Blanco^[2], Fabio T. Higa^[3], Maria Gisele Gonçalves^[3], Maristela M. Salgado^[3], Lucila O. Fukasawa^[3], Fabiana Cristina Pereira dos Santos^[4], Telma R.M.P. Carvalhanas^[1]

^[1]Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR), Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (CVE), Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), São Paulo, Brasil. ^[2]Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz (IAL), Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), São Paulo, Brasil. ^[3]Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz (IAL), Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), São Paulo, Brasil. ^[4]Laboratório de Riquetsias, Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz (IAL), Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

A meningite bacteriana pode ser causada por diversas espécies de bactérias, sendo as principais *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*.

O principal reservatório destas bactérias é a nasofaringe humana, particularmente os indivíduos portadores. As bactérias são transmitidas de pessoa a pessoa por meio de contaminação oral-oral (por meio de gotículas), ou seja, quando do compartilhamento de alimentos, bebidas ou cigarros, do beijo, ou da tosse ou espirro.

O diagnóstico laboratorial para identificação do agente etiológico causador da meningite é de extrema importância para a vigilância epidemiológica e para as medidas de prevenção e controle. A identificação do agente etiológico pela cultura é considerada o exame padrão ouro, pois permite a caracterização antigênica (sorogrupo/sorotipo/sorosubtipo), genética (genotipo/clone), e de resistência antimicrobiana.

O exame quimiocitológico do líquido permite a contagem e o diferencial das células, as dosagens de glicose e proteínas, e deste modo, expressa a intensidade do

processo inflamatório/infeccioso e orienta a suspeita clínica. Nas meningites bacterianas ocorre maior celularidade e o predomínio mantido de neutrófilos (Quadro 1). O exame quimiocitológico não deve ser utilizado na conclusão do diagnóstico das meningites por sua baixa especificidade.

A cultura, tanto de líquido quanto de sangue (hemocultura), tem alta especificidade e sua realização é de responsabilidade dos laboratórios dos hospitais, municípios, e regiões de atendimento do caso, assim como os exames de antibiograma, quimiocitológico, bacteroscopia e o teste de aglutinação pelo látex.

As cepas de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* isoladas de líquidos considerados normalmente estéreis (sangue, líquido, líquido pleural, líquido abdominal e outros) devem ser encaminhadas para sua completa caracterização e confirmação da concentração inibitória mínima (CIM) ao Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) de São Paulo.

Amostras de líquido e/ou sangue também podem ser encaminhadas aos IAL regionais e/ou Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas do IAL de São Paulo para a realização de PCR em Tempo Real (qPCR).

No contexto de um surto e/ou agregado de casos (ocorrência de doença em frequência inesperada) o IAL poderá analisar as amostras de todos os casos.

Este informe técnico tem por objetivo aprimorar o acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte de amostras biológicas destinadas ao diagnóstico e caracterização laboratorial dos agentes etiológicos que causam meningites bacterianas.

Quadro 1. Exame quimiocitológico de líquido nas meningites de acordo com a suspeita clínica

Diagnóstico	Aspecto	células (leucócitos/mm ³)	proteína (mg/dL)	glicose (mg/dL)	Bacteroscopia Gram
Normal	límpido incolor	RN até 20 < 1ano até 10 > 1ano até 5	15 - 50	45 - 100	negativo
Meningite bacteriana	turvo purulento	> 500 (neutrófilos)	> 100	< 50	positivo*
Meningite viral	límpido	até 500 (linfócitos)	normal	normal	negativo
Meningite por fungo	límpido	> 10 (linfócitos e monócitos)	aumentado	diminuído	positivo**
Meningite por parasita	turvo	500 – 2000 (eosinófilos)	aumentado	normal	negativo

*presença de cocos, diplococos, bacilos ou cocobacilos Gram-positivos ou Gram-negativos; ** presença de filamentos ou leveduras.

I. Acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte de cultura bacteriana (cepa) de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*

A cultura bacteriana (cepa) deve ser encaminhada em meio apropriado, com crescimento bacteriano recente (18 a 24 horas) e adequadamente fechado. Conservar e transportar à temperatura ambiente em caixa isotérmica.

As bactérias (cepas), em especial as dos gêneros *Neisseria*, *Haemophilus* e *Streptococcus*, são exigentes para o seu crescimento em cultura, sendo sensíveis às condições ambientais como temperatura e dessecação, portanto, é necessário cuidado quanto ao acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte evitando-se assim contaminação e/ou inviabilidade das cepas bacterianas.

1. Acondicionamento e Manuseio

O manuseio das culturas bacterianas (cepas) deve obedecer às normas internacionais de biossegurança. Em sua maioria, estas bactérias são consideradas agentes infecciosos de Classe de Risco Biológico Nível 2 (NB-2), que corresponde a moderado risco individual e limitado risco para a comunidade. Entretanto, este risco é aumentado para os profissionais que manipulam rotineiramente isolados de *N. meningitidis* quando comparado ao risco da população em geral. Para estes profissionais estão indicadas as vacinas meningocócicas de acordo com o manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIES). A recomendação é que as cepas sejam manipuladas por profissionais treinados para o trabalho com agentes patogênicos; em cabines de segurança biológica NB-2 e com uso obrigatório de Equipamentos de Proteção Individual (EPI - luva, máscara e avental). As cabines de segurança biológica devem estar com a manutenção preventiva e/ou corretiva assegurada.

As bactérias mantêm sua viabilidade em meios de cultura adequados, e em temperatura ambiente por curto período de tempo - *Neisseria meningitidis* por 2 a 3 dias, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* por 4 a 5 dias. Portanto, as culturas bacterianas devem ser repicadas após este período ou devem ser mantidas de forma congelada. Os meios de cultura mais utilizados são: ágar sangue de carneiro 5% ou ágar chocolate 5% para *N. meningitidis* e *S. pneumoniae* e ágar chocolate 5% enriquecido para *H. influenzae*.

2. Manutenção

A melhor forma de garantir a viabilidade da cultura bacteriana (cepa) por período curto de armazenamento é o crescimento em meios de cultura sólido para o cultivo do agente à temperatura ambiente. Culturas em caldo não devem ser utilizadas, pois facilitam a contaminação, diminuindo a viabilidade da cepa. Para manter a viabilidade da cepa isolada por período prolongado a melhor forma é o congelamento. Para o congelamento pode ser utilizado leite desnatado a 10% ou caldo (TSB, Muller Hinton) com 15% de glicerol e manter a -70°C ou a -120°C (nitrogênio). O congelamento a -20°C pode ser utilizado, porém se espera perda de viabilidade da cepa em 3 a 6 meses.

3. Transporte

As culturas bacterianas (cepas) devem ser transportadas em meios de cultura sólidos, adequados para cada espécie e sem refrigeração. Também podem ser utilizados meios de transporte como o AMIES com carvão ou sílica gel, pois mantêm a viabilidade bacteriana por uma semana. As culturas devem ser transportadas em repique recente, isto é, com crescimento de 18 a 24 horas. Deve-se evitar o transporte das cepas de forma congelada, mas se for este o transporte escolhido, assegurar gelo seco em quantidade suficiente para manter a baixa temperatura durante todo o transporte. Nunca transportar as culturas bacterianas de forma congelada em sangue ou outros meios líquidos não recomendados.

O empacotamento das cepas para transporte deve seguir as normas indicadas no Manual de Biossegurança de Laboratório (OMS, Genebra, 1987) e as recomendações da IATA quando o transporte for aéreo. Em resumo, os tubos e/ou placas com as culturas devem ser envoltos em papel absorvente, seguido de saco plástico, e colocados em recipiente resistente com tampa, que por sua vez deve ser colocado no recipiente de transporte de papelão. O papel absorvente que envolve o tubo ou placa deve ser suficiente para absorver o conteúdo completo do recipiente, caso este se rompa. Na caixa de transporte deve ser colocada uma etiqueta com o nome do laboratório de destino, endereço e a advertência de que se trata de material/agente biológico.

Todas as cepas devem ser transportadas acompanhadas de sua identificação de origem (nome do laboratório, cidade, nome do responsável pelo envio, informações para contato e outros) e dos dados demográficos do paciente (nome, idade, sexo, data da coleta do material, suspeita clínica, material clínico de isolamento, cidade de residência, medicação/antibióticos, vacinação quando disponível e outros). As culturas bacterianas (cepas) encaminhadas ao IAL sem identificação e informação do paciente tem seu valor epidemiológico comprometido.

II. Coleta e semeadura de amostras de lesão petequial destinadas à pesquisa de *Neisseria meningitidis*

1. Raspado da lesão

Fazer assepsia da pele no local da lesão petequial com álcool 70%. Escarificar o centro da lesão, com auxílio de uma ponta de agulha estéril (calibre 21 ou 23) até que comece um leve sangramento. Coletar o material exposto pela escarificação da lesão preferencialmente com alça bacteriológica descartável. O material também poderá ser coletado com *swab* de rayon ou de alginato de cálcio, todavia estas alternativas têm menor rendimento. Semear imediatamente, por esgotamento, o material coletado, em placa com ágar sangue de carneiro a 5% ou ágar chocolate a 5%, nas condições mais assépticas possíveis. Adicionalmente, com o material coletado da lesão, fazer esfregaços de 3 a 4 mm de diâmetro, em lâminas de microscopia para coloração de Gram. As lâminas e as placas de meio de cultura semeadas devem ser enviadas ao laboratório, à temperatura ambiente, imediatamente após a coleta. No laboratório, recomenda-se após a secagem, fixar os esfregaços cobrindo a lâmina com duas gotas de metanol por 1 minuto, drenar o excesso, sem lavar. Proceder à coloração de Gram. Com relação à cultura, estriar o material na placa com auxílio de uma alça bacteriológica estéril e incubar as placas em estufa, sob atmosfera de 5 a 10% de CO₂, a 37°C, por 24 a 48 horas.

2. Aspirado da lesão

Fazer assepsia da pele no local da lesão petequial com álcool 70%. Pinçar uma dobra da pele entre o dedo indicador e o polegar, de modo que empalideça o tecido em volta e destaque o ponto hemorrágico no alto da prega. Com uma seringa tuberculínica e agulha hipodérmica estéril, injetar um pequeno volume de 0,1 a 0,2 mL (dependendo do tamanho da petéquia) de solução fisiológica estéril no centro da lesão e, em seguida aspirar ao líquido injetado. Dispensar o material aspirado imediatamente em placa com ágar sangue de carneiro a 5% ou ágar chocolate a 5% e, em seguida, estriar o material na placa com auxílio de uma alça bacteriológica descartável ou *swab* de rayon ou de alginato de cálcio. Adicionalmente, com o material aspirado, fazer esfregaços de 3 a 4 mm de diâmetro, em lâminas de microscopia para coloração de Gram. As lâminas e as placas de meio de cultura semeadas devem ser enviadas ao laboratório, à temperatura ambiente, imediatamente após a coleta. No laboratório, recomenda-se proceder como orientado para o raspado da lesão.

III – Meningites por outras bactérias

Outras bactérias também podem causar meningite, entre elas se destacam: *Streptococcus spp* – especialmente espécies do grupo B (*pyogenes*); *Streptococcus agalactie*; *Listeria monocytogenes*; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus spp*; *Enterococcus spp*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella pneumoniae*; *Enterobacter spp*; *Salmonella spp*; *Shigella spp*; *Escherichia coli*; *Proteus spp*; *Treponema pallidum*; *Leptospira spp*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia spp*.

A coleta das amostras biológicas, líquido e/ou sangue e/ou outros, deve ser realizada preferencialmente antes da introdução do antibiótico. A cultura permite realizar o teste de sensibilidade aos antibióticos e a partir do isolamento da cepa é possível identificar o gênero/espécie da mesma. Amostras de sangue devem ser semeadas imediatamente no frasco de hemocultura adequado para idade (pediátrico ou adulto).

O acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte dessas bactérias podem ocorrer conforme as orientações descritas para *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*, levando em consideração as características de crescimento e meios de cultura específicos para cada uma delas, assim como a classe de Risco Biológico que passa de Nível 2 para Nível 3 (NB-3) quando se tratar de cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

Os meios de cultura mais utilizados para transporte dessas bactérias são: ágar Nutriente, Cary Blair ou similar para *Listeria monocytogenes*; ágar BHI, Tryptic Soy ou similar para *Staphylococcus spp* e *Enterococcus spp*; ágar Nutriente, MacConkey ou similar para *Salmonella spp*, *Shigella spp* e *Escherichia coli*; ágar sangue ou chocolate para *Streptococcus agalactie* ou *pyogenes*; Lowenstein-Jensen (LJ) ou meios comerciais para *Mycobacterium tuberculosis*; Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) para *Leptospira spp* e meio BHI para *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia spp*.

IV. Coleta e semeadura de amostras destinadas à pesquisa de Micobactérias

1. Pesquisa direta

Líquor – preparar o esfregaço em lâmina e, para o exame direto, utilizar a coloração de Ziehl Neelsen. Seguir as orientações de semeadura e incubação descritas no Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias (vide referências).

2. Pesquisa por cultura

Líquor - coletar um volume mínimo de 5 mL em tubo de polipropileno estéril com tampa bem fechada. Conservar e transportar em temperatura ambiente em caixa isotérmica.

Sangue - coletar 3 a 5 mL com assepsia e semear imediatamente no frasco de hemocultura adequado para idade (pediátrico ou adulto). Conservar e transportar a temperatura ambiente e ao abrigo da luz em caixa isotérmica.

V – Coleta, semeadura e transporte de amostras destinadas à pesquisa de Leptospiras

1. Pesquisa por cultura

Realizar a coleta de líquido e/ou sangue preferencialmente antes da administração de antibióticos e até o 7º dia após o início dos sintomas.

Líquor – coletar no mínimo 1 mL em tubo estéril ou semear asepticamente 0,5 mL da amostra em tubo com meio de cultura semissólido para leptospira. Conservar e transportar à temperatura ambiente, ao abrigo da luz e em caixa isotérmica.

Sangue – coletar e semear no momento da coleta, asepticamente, em dois tubos com meio de cultura para leptospira. Um tubo com 1 gota de sangue e o outro com 2 gotas de sangue. Conservar e transportar a temperatura ambiente, ao abrigo da luz e em caixa isotérmica. O meio de cultura para leptospira EMJH pode ser retirado no laboratório de Leptospirose do Centro de Bacteriologia do IAL de São Paulo.

2. Pesquisa de anticorpos anti-leptospira pelo teste de aglutinação microscópica (MAT)

Líquor - coletar 1 a 3 mL em tubo estéril. Conservar em geladeira e transportar entre 2°C a 8°C com gelo reciclável em caixa isotérmica..

Soro - coletar sangue venoso em tubo estéril sem anticoagulante. Após obtenção de no mínimo 3 mL de soro, conservar em geladeira e transportar entre 2°C a 8°C com gelo reciclável em caixa isotérmica. Recomenda-se a coleta de amostras de soro pareadas, sendo a primeira no atendimento e a segunda com intervalo de 14 a 21 dias (máximo de 60 dias) após a primeira coleta.

VI. Coleta e semeadura de amostras destinadas à pesquisa de *Treponema*

Amostras de líquido, sangue (soro) e fragmentos de tecido para diagnóstico de neurosífilis consultar o manual eletrônico de exames do IAL.

VII. Coleta, armazenamento e transporte de amostras destinadas à pesquisa de *Rickettsias* (Febre maculosa)

Realizar a coleta da primeira amostra de sangue imediatamente após a suspeita clínica, preferencialmente antes da introdução do antibiótico. Embora apresente menor sensibilidade para o diagnóstico, nos casos suspeitos de encefalite por febre maculosa, uma amostra de líquido também poderá ser enviada juntamente com a amostra de soro.

1. Pesquisa de anticorpos por reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Coletar 5 mL de sangue em tubo sem anticoagulante, o soro será utilizado para o exame. Coletar a 1ª amostra de soro na fase aguda da doença (até 7 dias após o início dos sintomas) e a 2ª amostra a partir de 15 dias da primeira. Para envio imediato (até 6 horas) conservar em geladeira e após esse período o soro deve ser separado e conservado em freezer a -20°C, transportado em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, em quantidade suficiente para manter as amostras congeladas até a chegada ao laboratório. As amostras só serão processadas após o recebimento da 2ª amostra, quando em reação pareada buscar-se-á identificar a elevação de títulos de anticorpos específicos (2 títulos ou 4 vezes a diluição) entre a primeira e a segunda amostras.

Devido à janela imunológica, ou seja, o período após a infecção que o organismo leva para produzir concentrações de anticorpos detectáveis pela RIFI, a primeira amostra não será processada isoladamente, pois na maioria dos casos resultará em falso negativo prejudicando a avaliação do clínico e dos dados epidemiológicos sobre o agravo. Para este exame, os resultados da pesquisa de IgG são mais específicos do que a pesquisa de IgM, por esta razão só os anticorpos IgG são utilizados para o diagnóstico da febre maculosa.

2. Pesquisa por Imuno-histoquímica (IHQ)

A pesquisa de antígeno em fragmentos de tecido e órgãos é realizada por meio da imunoperoxidase, e os resultados consistem na demonstração positiva de antígenos em

células endoteliais de amostras de biópsia ou autópsia em cortes de tecido parafinado, associados à lesão endotelial com espectro de lesão da pele variando desde infiltrados linfomononuclear até quadros de intensa vasculite leucoclastica.

Os fragmentos de tecido (pele, fígado e/ou pulmão), de aproximadamente 1,5cm³, devem ser acondicionados em frasco individual de boca larga (tipo coletor universal) contendo solução fixadora, formalina 10% ou formalina tamponada no volume de 20 vezes o volume do fragmento. Identificar o frasco com nome do paciente e local do fragmento coletado. Conservar e transportar em temperatura ambiente em caixa isotérmica em até 48h. Evitar temperaturas acima de 40°C.

3. Pesquisa por qPCR

Para a febre maculosa este exame é complementar à sorologia e exclusivo para casos de óbito. O exame é realizado na mesma amostra enviada para sorologia: primeira amostra de soro coletada na fase aguda da doença, não sendo necessário envio de uma alíquota específica para este exame.

O volume recomendado de amostra para este exame é 500µL, sendo o mínimo de 200µL. Nos casos onde a evolução para óbito ocorrer após o envio da amostra para a realização da sorologia, o solicitante deverá informar diretamente ao laboratório para que a amostra seja encaminhada para pesquisa por qPCR.

Excepcionalmente a pesquisa por qPCR poderá ser realizada para casos graves, com potencial risco de evolução para óbito impossibilitando a coleta da segunda amostra para o diagnóstico pela sorologia.

É importante lembrar que na pesquisa por qPCR para febre maculosa há possibilidade de resultados falso negativos devido ao curto período de bacteremia, assim quanto mais precoce for coletada a amostra para o diagnóstico, maiores são as possibilidades de detecção do agente etiológico. Por se tratar de uma bactéria intracelular obrigatória, o grau da lesão celular (vasculite) é diretamente proporcional à quantidade de riquétsias presente no sangue periférico, sendo esta uma das principais razões pela qual a qPCR está indicada somente para os casos de óbito.

4. Isolamento em cultura para riquetsias do grupo febre maculosa

Para este exame o IAL utiliza a metodologia chamada “shell vial” onde é possível identificar o padrão de crescimento característico das riquetsias no microscópio de fluorescência. Amostras de coágulo sanguíneo, autopsias (fígado, lesão cutâneas e sufusões hemorrágicas) e biópsias de pele (região cutânea exantemática ou local da picada do carrapato) podem ser enviadas ao IAL. A manipulação de riquetsias viáveis para replicação *in vitro* é um procedimento que exige nível de segurança biológico NB3.

As amostras para isolamento devem ser coletadas em condições de assepsia e acondicionadas em frascos estéreis criogênicos contendo meio de transporte BHI (Brain Heart Infusion, infusão de cérebro coração). Nunca deve ser enviado material para isolamento em tubo ou frasco de vidro. O armazenamento deve ser em freezer - 70°C e, o transporte pode ser em gelo seco ou nitrogênio líquido. As riquetsias são muito frágeis por isso, é muito importante sua conservação em temperaturas muito baixas até o processamento do exame.

O isolamento em cultura, assim como a qPCR são úteis nos casos graves ou óbito, quando a coleta de amostras clínicas ocorre na fase aguda da doença, situação em que ainda não há anticorpos detectáveis, porém, devido a intensa vasculite causada pelas riquetsias, ocorre riquetsemia, tornando possível o isolamento da bactéria em sangue periférico.

O resultado positivo no isolamento é conclusivo, porém o resultado negativo tem baixo valor preditivo negativo, por isso é necessário à confirmação pela sorologia pareada.

VIII. Acondicionamento, manuseio, manutenção e transporte de amostras destinadas à pesquisa por qPCR de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*

1. Tipo de amostra

As amostras apropriadas para pesquisa por qPCR são líquor e soro. Fragmentos de tecidos após o óbito poderão ser utilizados em casos específicos (ver item 8).

2. Volume da amostra

O volume ideal de líquido ou soro deve ser de, no mínimo, 500 µL. Amostras com volume menor que o ideal serão processadas, no entanto, o resultado do exame poderá ser prejudicado e uma observação referente ao volume inadequado para análise constará no laudo. No caso de fragmentos de tecidos, uma amostra de aproximadamente 20 a 50 mg (tamanho de um grão de feijão) é suficiente para as análises.

3. Manuseio

Sempre que possível manusear as amostras dentro de cabine de segurança biológica. A cabine deve ser irradiada com luz ultravioleta por no mínimo 15 minutos antes de ser utilizada. As amostras destinadas a qPCR devem ser divididas em alíquotas antes de serem manipuladas para outros exames, como cultura e látex. Os tubos com amostras de sangue total devem ser centrifugadas por 15 a 20 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante coletado para o ensaio. Sempre utilizar ponteiros descartáveis com bloqueio de aerossol. Caso não seja possível, utilizar pipeta Pasteur nova. Nunca utilizar material reciclado mesmo que esterilizado em autoclave. Não manipular as amostras destinadas a qPCR em áreas onde sejam realizadas culturas ou suspensões bacterianas.

4. Acondicionamento

As amostras/alíquotas devem ser armazenadas obrigatoriamente em tubos novos, preferencialmente pequenos, com tampa de rosca com anel de vedação (criotubo), próprios para acondicionamento e encaminhamento como mostrado na Figura 1. Frascos como o coletor universal estéril, frasco com lacre metálico, frasco sem tampa de rosca e sem vedação e tubos tipo Eppendorf não devem ser utilizados, pois podem facilitar o vazamento do líquido biológico ou do sangue contido nos fragmentos de tecidos, prejudicando a qualidade dos ensaios e a biossegurança tanto dos indivíduos durante o transporte quanto dos funcionários responsáveis pela manipulação das amostras (Figura 2). Fechar a tampa do tubo, evitando derramamentos ou vazamentos. Se ocorrer derramamento da amostra sobre quaisquer superfícies de trabalho, proceder, imediatamente, à desinfecção das áreas com solução de hipoclorito de sódio 2% (v/v). As amostras de fragmentos de tecidos devem ser enviadas em tubos com ou sem solução salina estéril. Nunca em formol. As amostras devem ser estocadas a -20°C até o transporte.

Figura 1. Exemplos de frascos/tubos ADEQUADOS para o acondicionamento de amostras líquidas e materiais após o óbito



Figura 2. Exemplos de frascos/tubos NÃO ADEQUADOS para o acondicionamento e transporte dos materiais biológicos.



Meningites Virais: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos/Liphaus BL et al.

5. Transporte e encaminhamento pelos IAL Regionais ao IAL São Paulo

As amostras devem ser previamente congeladas a -20°C e encaminhadas em gelo seco ou nitrogênio líquido preferencialmente, ou pelo menos, mantidas congeladas em caixa isotérmica com gelo reciclável para garantir a qualidade. Os tubos devem ser mantidos em pé durante o transporte para impedir possíveis derramamentos. Os tubos com fragmentos de tecidos pós-óbito devem ser embalados individualmente com saco plástico para auxiliar na contenção do material.

6. Transporte e encaminhamento pelos LACENS ao IAL São Paulo

O transporte de amostras deve ser realizado em caixa própria para transporte de material biológico (UN3373) e seguindo as normas de biossegurança (Figura 3). As amostras devem ser encaminhadas ao Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas do IAL São Paulo em gelo seco para garantir sua qualidade.

7. Rejeição de amostras

Serão rejeitadas as amostras que chegarem sem vedação adequada com evidências de vazamento ou com lacre metálico ou com fita adesiva (fita crepe, esparadrapo) com evidências ou não de vazamento ou todas sem identificação adequada (nome do paciente e tipo de amostra).

8. Tipo de material e coleta após o óbito

Os materiais/fragmentos aceitos para processamento e realização de qPCR são: encéfalo (preferencialmente meninges), e um órgão filtrante (baço ou fígado), líquido e sangue (periférico ou cardíaco). Os fragmentos de tecidos devem estar *in natura* ou em solução salina, nunca em formol. A coleta deve ser feita rapidamente, utilizando um frasco para cada fragmento de tecido, preferencialmente em até 2 horas e no máximo em até 8 horas após o óbito. O(s) frasco(s) deve(m) ser devidamente identificado(s) (nome completo do paciente, tipo de material enviado e data da coleta). Após o óbito as amostras devem ser coletadas com condições máximas de assepsia, acondicionadas em frascos ou tubos novos e estéreis e enviadas ao laboratório com urgência, seguindo as orientações acima.

Figura 3. Manuseio, acondicionamento e transporte de amostras biológicas em condições ideais para pesquisa por PCR em Tempo Real (qPCR).



Meningites Virais: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos/Liphaus BL et al.

REFERÊNCIAS CONSULTADAS

1. Manual eletrônico de exames do Instituto Adolfo Lutz (IAL) - São Paulo. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amstras-biologicas>.
2. Laboratory biosafety manual, 4ed. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.
3. Orientações para o transporte de artigos perigosos em aeronaves civis. Disponível em: <https://www.anac.gov.br/assuntos/legislacao/legislacao-1/boletim-de-pessoal/2015/21/anexo-ii-is-175-001c>.
4. Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/299281330_Manual_Nacional_de_Vigilancia_Laboratorial_da_Tuberculose_e_outras_Micobacterias_Secretaria_de_Vigilancia_em_SaudeMSBrasil_2008.
5. Leptospirrose: diagnóstico e manejo clínico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/leptospirrose-diagnostico-manejo-clinico2.pdf>
6. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. WHO, 2nd edition, 2011. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70765>.
7. Fluxo de encaminhamento de cepas de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* dos Laboratórios Locais para os Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen e para o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo – Laboratório de Referência Nacional para as Meningites Bacterianas e Infecções Pneumocócicas Invasivas. Nota Informativa Nº 17/2019-CGLAB/DAEVS/SVS/MS.
8. Meningites. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Guia de Vigilância Epidemiológica. 1º ed. São Paulo: CVE, 2012, Caderno 3. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória, p.11-20.
9. Doença Meningocócica. Guia de Vigilância em Saúde: volume único. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 4º ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, capítulo 1, p.33-44.

Meningites Virais: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos/Liphaus BL et al.

10. Outras Meningites. Guia de Vigilância em Saúde: volume único. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 4^o ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, capítulo 1, p.45-69.
11. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis, Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, 174p.
12. American Academy of Pediatrics. Meningococcal Infections. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:519-32.
13. American Academy of Pediatrics. *Haemophilus influenzae* Infection. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:345-54.
14. American Academy of Pediatrics. *Streptococcus pneumoniae* (Pneumococcal) Infections. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:713-27.
15. Gorla MC, Cassiolato AP, Pinhata JMW, Moraes C, Corso A, Gagetti P, Lemos AP. Emergence of resistance to ciprofloxacin in *Neisseria meningitidis* in Brazil. J Med Microbiol. 2018; 67(3):286-8.
16. Liphaut BL, Yu ALF, Ferreira PM, Endo JAG, Silva MR, Carvalhanas TRMP. Meningite: O que precisamos saber? (Meningitis: What do we need to know?). Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2018;15(178):23-32.
17. Liphaut BL, Okai MICG, Silva APD, Gorla MC, Fernandes MR, Pacola MR, Collucci MAF, Shinkai IAM, Higa FK, Catani CF, Marques EGL, Carvalhanas TRM. Outbreak of *Neisseria meningitidis* C in a Brazilian oil refinery involving an adjacent community. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013; 31(2):88-92.
18. Figueira GCN, Carvalhanas TRMP, Okai MIG, Yu ALF, Liphaut BL. Avaliação do sistema de vigilância das meningites no município de São Paulo, com ênfase para doença meningocócica. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2012; 9(97):5-25.
19. Salgado MM, Higa FT, Gonçalves MG, Fukasawa LO, Liphaut BL, Oliveira, PL, Silva CN, Sacchi CT. Nova versão do ensaio da PCR em Tempo Real para o diagnóstico laboratorial

Meningites Virais: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos/Liphaut BL et al.

e vigilância epidemiológica das meningites bacterianas. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2012; 9(103):16-20.

20. Oliveira PL, Fukasawa LO, Salgado MM, Gonçalves MG, Higa FT, Araújo TP, Liphaut BL, Sacchi CT. Uso da Técnica de PCR em Tempo Real no Diagnóstico Etiológico das Meningites Bacterianas Associadas ao *Staphylococcus aureus*. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2012; 9(98):4-11.
 21. Carvalhanas TRMP, Liphaut BL, Pellini ACG, Yu ALF, Freitas GD, Ribeiro AF. Evaluation of bacterial meningitis Sentinel Surveillance Program (BMSSP) introduced in 2007 in São Paulo state, Brazil. Int J Inf Dis. 2011; 14(suppl):e277.
 22. Sacchi CT, Fukasawa LO, Gonçalves MG, Salgado MM, Shutt KA, Carvalhanas TR, Ribeiro AF, et al. and São Paulo RT-PCR Surveillance Project Team. Incorporation of real-time PCR into Routine Public Health Surveillance of Culture Negative Bacterial Meningitis in São Paulo, Brazil. *PlosOne* 2011;6:1-6, e20675.
 23. Carvalhanas TRMP, Brandilione MCC, Zanella RC. Meningites bacterianas. Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) 2005; 2(17):1-13.
-

Correspondência para/Correspondence to:

Bernadete L. Liphaut

E-mail: dvresp@saude.sp.gov.br

Meningites Virais: Diagnóstico e Caracterização Laboratorial dos Agentes Etiológicos/Liphaut BL et al.

Informe epidemiológico

Difteria: atualização das orientações de prevenção e controle

Diphtheria: an update of the prevention and control measures

Difteria: atualização das orientações de prevenção e controle

Diphtheria: an update of the prevention and control measures

**Marcela Rodrigues Silva^[1], Bernadete L Liphhaus^[1], Ana Lúcia Frugis Yu^[1], Sergio Bokermann^[2],
Telma RMP Carvalhanas^[1]**

^[1]Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR), Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (CVE). ^[2]Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz (IAL).
Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo. São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

A difteria é uma doença infecciosa aguda que afeta o trato respiratório superior (amígdalas, faringe, laringe, fossas nasais) e, ocasionalmente, a pele, vagina ou conjuntiva, causada pela ação da toxina diftérica produzida pelo *Corynebacterium diphtheriae* e *Corynebacterium ulcerans* quando infectados por bacteriófago beta (fago) específico.¹⁻⁴

O quadro clínico produzido pelo bacilo diftérico não-toxigênico também pode determinar a formação de placas características, embora quadros atípicos tenham sido observados, incluindo endocardite, bacteremia, pneumonia e osteomielite.^{1,2} As infecções causadas pelos bacilos não-toxigênicos têm importância epidemiológica por disseminar o *Corynebacterium*.^{1,2}

Os casos suspeitos de difteria com isolamento de cepas não produtoras de toxina devem ser tratados, notificados, ter os comunicantes monitorados e a quimioprofilaxia dos contatos realizada a exemplo das cepas toxigênicas.^{1,2}

A transmissão do bacilo diftérico ocorre, em média, até duas semanas após o início dos sintomas, pelo contato de indivíduos suscetíveis com doentes ou portadores assintomáticos, por meio de gotículas ou pelo contato com as lesões cutâneas.^{1,4} O período de incubação é, em geral, de 2 a 5 dias, com variação de 1 a 10 dias.^{1,2} O homem (doente ou portador) é o único reservatório do *Corynebacterium diphtheriae*.^{1,2,4} O portador pode eliminar o bacilo por 6 ou mais meses, o que o torna importante na disseminação da doença.^{1,2,4}

O diagnóstico de difteria é estabelecido pelo quadro clínico, isolamento e identificação do bacilo diftérico a partir da coleta de amostras biológicas de nasofaringe e/ou orofaringe e/ou lesão cutânea.^{1,2,5,6} O diagnóstico clínico, principalmente em países onde a doença é incomum, não é fácil e pode ser confundida com outras causas, como amigdalite ou faringite estreptocócica. Lembrar que os indivíduos completamente imunizados podem ser portadores assintomáticos ou apresentar dor de garganta leve.² Assim, o diagnóstico etiológico, precoce e preciso, do caso suspeito é essencial para o sistema de vigilância epidemiológica, o tratamento do caso, as ações de prevenção relacionadas aos contatos próximos, garantir o quantitativo e distribuição da antitoxina diftérica e as ações de vacinação.^{1,2,5,6} O isolamento do bacilo, gram-positivo, está diretamente relacionado a coleta, transporte e acondicionamento adequados das amostras, os quais devem ocorrer de acordo com o protocolo laboratorial de coleta para casos suspeitos de difteria e comunicantes.^{6,7} Os laboratórios devem encaminhar todas as cepas isoladas de *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans* e/ou *Corynebacterium pseudotuberculosis* para o laboratório de referência nacional para teste de confirmação, toxigenicidade e de resistência antimicrobiana.^{6,7}

A difteria é endêmica na Ásia, no Pacífico Sul, no Oriente Médio, na Europa Oriental, no Haiti e na República Dominicana e desde de 2016 surtos foram observados na Indonésia, Bangladesh, Myanmar, Vietnã, Venezuela, Haiti, África do Sul e Yemen.^{3,5,8,9}

Em 2021, 3 países notificaram casos confirmados de difteria: Brasil (01 caso), Haiti (12 casos, incluindo 02 óbitos) e República Dominicana (13 casos e 10 óbitos).⁸ No Brasil, o caso de difteria foi confirmado por cultura, estava com o esquema vacinal incompleto e não apresentava histórico de viagem. Durante a investigação dos contatos não houve confirmação de novos casos.⁸ No estado de São Paulo o número de casos e óbitos de difteria apresentou importante redução após a introdução da vacina DPT.¹⁰ Um caso de difteria foi confirmado em 2019 (Figura 1).¹⁰

A difteria é de notificação compulsória imediata em âmbito nacional, no sentido de possibilitar o registro no SINAN-Net, a investigação adequada dos casos suspeitos, agregados de casos/óbitos e surtos, e a adoção oportuna das medidas de prevenção e controle.¹

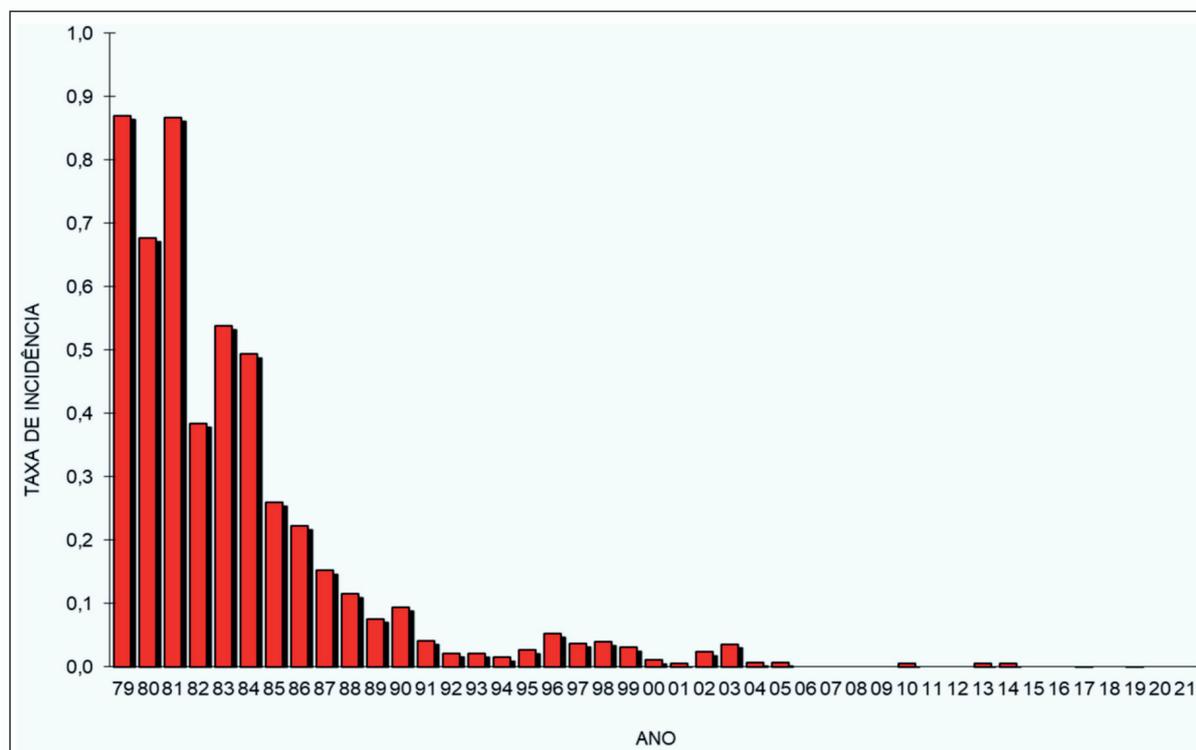


Figura 1. Taxa de incidência de difteria (por 100.000 habitantes-ano), Estado de São Paulo, 1979 a 2021¹⁰

ORIENTAÇÕES DE PREVENÇÃO E CONTROLE

Frente ao caso suspeito de difteria o soro antidiftérico (SAD), endovenoso (EV), é a principal medida terapêutica, que diminui o risco de agravamento (Quadro 1).^{1,11} A finalidade do SAD é inativar a toxina circulante e não tem ação sobre a toxina impregnada no tecido, por isso sua administração deve ser a mais precoce possível.^{1,11} O uso de antibiótico adequado (Quadro 2) por 14 dias é importante medida terapêutica auxiliar para interromper a produção de toxina.^{1,2} Preferencialmente coletar a cultura antes do início do antibiótico.^{6,7} O tratamento com antibiótico adequado elimina o bacilo diftérico da orofaringe em 24 a 48 horas, reduzindo sua transmissão.^{1,2} A eliminação do bacilo deve ser documentada 24 horas após o final do tratamento por meio de pelo menos uma cultura negativa.^{1,2} O paciente deve permanecer isolado com precauções padrão e de contato até cultura negativa.² Apesar do tratamento adequado, podem ocorrer complicações (insuficiência respiratória, miocardite, neurite e nefropatia) e óbito.¹ O caso de difteria deve ter seu esquema vacinal atualizado, uma vez que nem a doença, nem a vacinação conferem imunidade permanente.^{1,2}

Todos os comunicantes do caso suspeito de difteria devem ser identificados e avaliados com vistas a adotar as medidas de prevenção e controle (vacinação seletiva e quimioprofilaxia) e evitar o surgimento de casos secundários de acordo com o fluxograma mostrado abaixo.^{1,2} Recentemente a nota técnica nº 798/2021-CGPNI/DEDT/SVS/MS acrescentou novos antibióticos ao esquema quimioprofilático da difteria (Quadro 3).¹²

No estado de São Paulo, em 2021, todas as regiões apresentaram diminuição da cobertura vacinal e da homogeneidade da vacina pentavalente com percentuais abaixo de meta de 95% e de 70%, respectivamente, preconizadas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) e pelo Programa Estadual de Imunização (PEI).^{1,13} Além do calendário básico é importante garantir as doses de reforço com a vacina dT (dupla adulto) a cada 10 anos para a população em geral e assegurar altas coberturas da dTpa (vacina adsorvida difteria, tétano, *pertussis* acelular) em gestantes e puérperas.^{9,13-15}

A difteria foi controlada devido às medidas de controle, vacinação e quimioprofilaxia, no entanto o agente etiológico associado à doença não foi eliminado e não está sujeito a um programa de eliminação.⁸ Portanto, dada a redução da cobertura vacinal entre as crianças, o declínio da imunidade induzida pelas vacinas ao longo do tempo e a falta das doses de reforço em adolescentes/adultos, é altamente provável que ocorram casos de difteria. Assim a difteria pode voltar a ser endêmica na região das américas. Os viajantes que se desloquem para áreas endêmicas ou com surto de difteria devem ter suas vacinas atualizadas.⁸ Se mais de 5 anos se passaram desde a última dose, uma dose de reforço é recomendada.^{8,9}

As informações epidemiológicas relacionadas a difteria devem ser amplamente divulgadas à população e aos serviços de saúde públicos e privados no sentido de garantir a investigação adequada dos casos suspeitos, dos agregados de casos/surtos e dos óbitos, e a adoção oportuna das medidas de prevenção e controle.¹

Quadro 1. Esquemas de administração do soro antidiftérico (SAD)¹¹

Forma Clínica	Dosagem*
Leve (nasal, cutânea, amigdaliana)	20.000 a 40.000 UI, EV, dose única
Laríngeoamigdaliana ou mista	40.000 a 60.000 UI, EV, dose única
Grave ou tardia (4 dias de doença)	80.000 a 100.000 UI, EV, dose única

As doses de SAD não dependem do peso ou da idade do paciente, e sim da forma clínica. O frasco-ampola tem potência de 1.000 UI/mL. A administração do soro deve ser realizada em unidade de saúde preparada para tratamento de possíveis eventos adversos.

Quadro 2. Antibióticos para tratamento da difteria¹

Antibiótico	Dosagem
Eritromicina	40 a 50 mg/kg/dia, via oral ou EV, 6/6h, 14 dias, máximo 2g/dia
Penicilina G cristalina	100.000 a 150.000 UI/Kg/dia, EV, 6/6h, 14 dias
Penicilina G procaína	50.000 UI/Kg/dia, IM, 12/12h, 14 dias, máximo 1.200.000 UI/dia
Clindamicina	20 a 40 mg/kg/dia, via oral, 8/8h, 14 dias

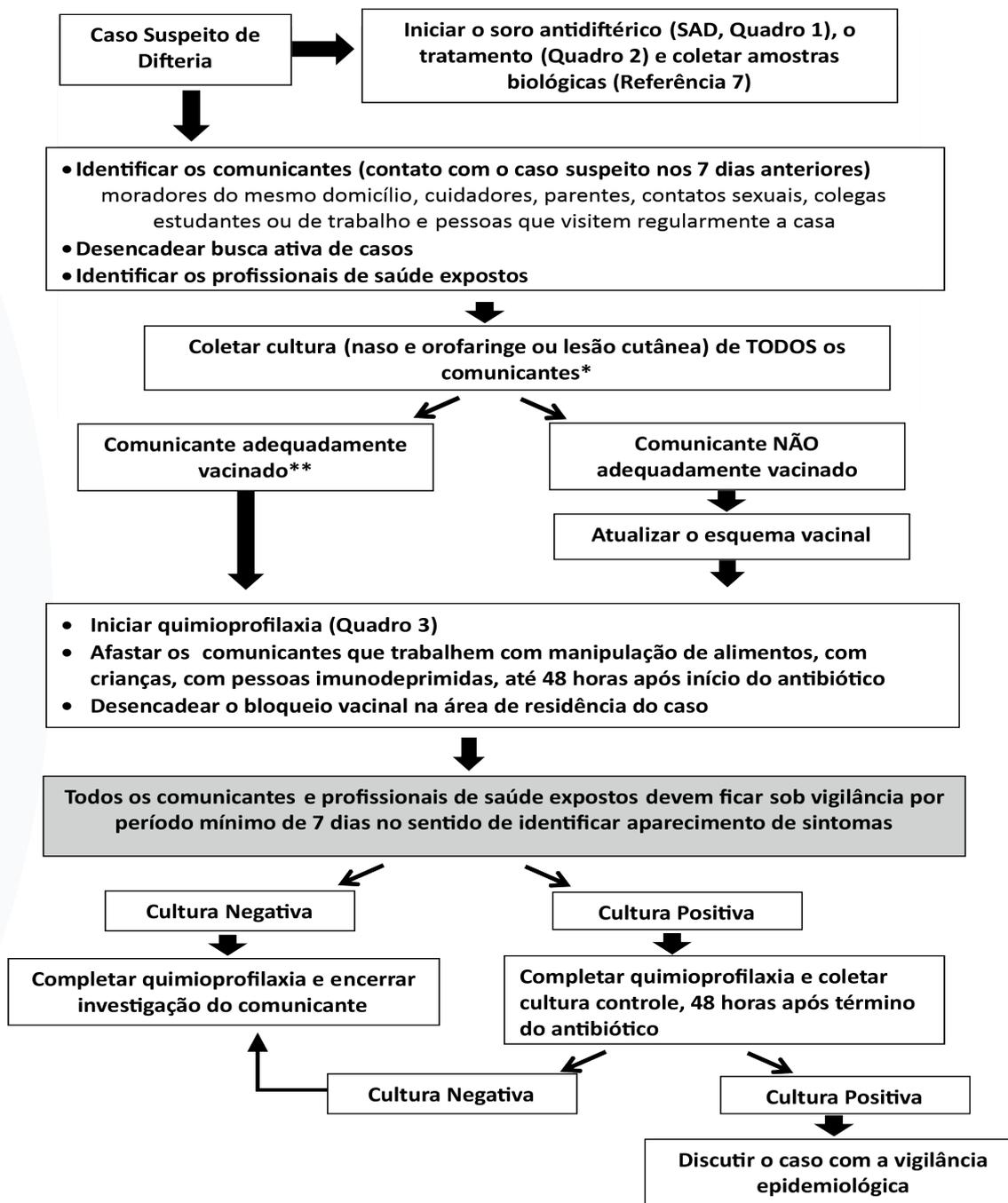
Quadro 3. Quimioprofilaxia para difteria^{1,12}

Antibiótico	Dosagem
Eritromicina*	Crianças 40 a 50 mg/kg/dia, via oral, 6/6h, 7 dias, máximo 2g/dia Adultos 500 mg/dose, via oral, 6/6h, 7 dias
Azitromicina	Crianças 10 mg/kg/dose, via oral, dose única, 5 dias, máximo 500 mg/dia Adultos 500 mg/dose, via oral, dose única, 5 dias
Claritromicina	Crianças 15 mg/kg/dia, via oral, 12/12h, 7 dias, máximo 1g/dia Adultos 500 mg/dose, via oral, 12/12h, 7 dias
Penicilina G benzatina**	< 30 kg, 600.000 UI, IM, dose única ≥ 30 kg, 1.200.000 UI, IM, dose única

*A eritromicina está contraindicada durante a gravidez, para pacientes com história de sensibilidade a este antibiótico e naqueles com doença hepática preexistente. Não é recomendada para menores de 1 mês devido à associação com a síndrome de hipertrofia pilórica.

**Devido às dificuldades operacionais para o uso de medicamentos orais, em função da dose indicada, tempo de uso e o fato da pessoa não apresentar sintomas, a penicilina G benzatina constitui-se como alternativa. A penicilina G benzatina deve ser aplicada em unidades de saúde adequadas para atender a ocorrência de possível choque anafilático.

FLUXOGRAMA
ORIENTAÇÕES DE PREVENÇÃO E CONTROLE DE DIFTERIA



*Se não for possível coletar material de todos os comunicantes, priorizar os que tenham contato com crianças (professores, atendentes de creche, entre outros), que apresentem diminuição da imunidade, manipuladores de alimentos, não vacinados, inadequadamente vacinados ou com estado vacinal desconhecido.¹²

**Considera-se adequadamente vacinado o indivíduo que recebeu: 3 doses de vacina DTP/Tetra/Penta/DT aos 2, 4 e 6 meses de idade, primeiro reforço aos 15 meses, segundo reforço aos 4 anos, reforço com dT (dupla adulto) aos 10 anos e reforços com dT de 10 em 10 anos de acordo com sua idade. Se indivíduo > 7 anos e última dose há mais de 5 anos aplicar 1 dose de dT.^{1,12}

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Difteria. Guia de Vigilância em Saúde: volume único. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, capítulo 2, p.85-97.
2. American Academy of Pediatrics. *Diphtheria*. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield K, Sawyer MH. eds. Red Book: 2021 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2021:304-7.
3. Silva MR, Liphaus BL, Ferreira PM, Yu ALF, Carvalhanas TRMP. Difteria: doença reemergente (*Diphtheria: reemerging disease*). BEPA 2019;16(183):25-9.
4. Centers of Disease Control and Prevention. The Pink Book. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Diphtheria. Atualizado em Dezembro de 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/dip.html>
5. Tiwari TSP, Acosta A. Centers of Disease Control and Prevention. Chapter 4. Travel-Related Infectious Diseases. Atualizado em Junho de 2019. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/diphtheria>
6. Ministério da Saúde. Informe sobre Coleta, Acondicionamento e Transporte de Material Suspeito de Difteria. Nota Informativa Nº 1-SEI/2017-CGLAB/DEVIT/SVS/MS.
7. Secretaria de Estado da Saúde. “Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória. Protocolo laboratorial: Coleta para Casos Suspeitos de Difteria e Comunicantes. Disponível em: https://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-respiratoria/difteria/difteria19_protocolo_coleta_out2019.pdf
8. Pan American Health Organization/World Health Organization. Epidemiological Update: Diphtheria. 25 June 2021. Disponível em: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/2021-June-25-phe-epidemiological-update-diphtheria.pdf>
9. Ministério da Saúde. Cenário Epidemiológico da Difteria em países da Região das Américas e Coberturas Vacinais. Nota Técnica Nº 340/2021-CGPNI/DEIDT/SVS/MS.
10. Secretaria de Estado da Saúde. “Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória. Difteria. Dados Estatísticos.

Disponível em: https://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-respiratoria/difteria/dados/difteria_dados.pdf

11. Ministério da Saúde. Orientação sobre notificação dos casos de difteria e administração do soro andiérico (SAD) potência 1000UI/ML. Ofício Circular Nº 13/2020/SVS/MS. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/10/Of--cio-Circular-n---13-2020-SVS-MS.pdf>
 12. Ministério da Saúde. Nova Definição, Atualização de Orientações e Ampliação de Esquemas Quimioprofiláticos para Comunicantes de Casos Suspeitos de Difteria. Nota Técnica nº798/2021-CGPNI/DEIDT/SVS/MS. 2021.
 13. DATASUS – Imunizações - Coberturas Vacinais por Ano Segundo Região/Unidade da Federação. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dhdat.exe?bd_pni/cpnibr.def
 14. MS orientação vacinação em gestante
 15. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis, Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019, 174p.
-

Correspondência para/Correspondence to:

Marcela Rodrigues Silva

E-mail: dvresp@saude.sp.gov.br

Difteria: atualização das orientações de prevenção e controle/
Silva MR, Liphaut BL, Frugis Yu AL, Sergio Bokermann S, Carvalhanas TRMP

Resumo

Estudo comparativo entre as técnicas de imunofluorescência direta, isolamento viral em camundongos e isolamento viral em cultivo celular utilizadas no diagnóstico da raiva

Comparative study among direct fluorescent antibody, mouse inoculation test and rabies tissue culture infection test used in rabies diagnosis

Resposta à pandemia de COVID-19 no estado de São Paulo

Response to the COVID-19 pandemic in the state of São Paulo

Estudo comparativo entre as técnicas de imunofluorescência direta, isolamento viral em camundongos e isolamento viral em cultivo celular utilizadas no diagnóstico da raiva

Adriana Candido Rodrigues Nasraui; Juliana Galera Castilho Kawai (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2020.

RESUMO

O diagnóstico laboratorial da Raiva é de fundamental importância para avaliação dos casos suspeitos de infecção pelo vírus da raiva (RABV) e as técnicas utilizadas devem apresentar alta sensibilidade e especificidade, bem como rapidez na obtenção dos resultados. No diagnóstico da Raiva é recomendada a confirmação do resultado da Imunofluorescência direta (IFD) por meio do isolamento viral (IV). Como o isolamento viral em camundongos (IVC) está sendo substituído pelo isolamento viral em cultura de células (IVCC) por questões éticas, estudos são necessários para avaliação do emprego da técnica de IVCC na rotina de diagnóstico da Raiva do Instituto Pasteur (IP). O objetivo desse estudo foi avaliar o fluxo do diagnóstico da Raiva do Laboratório de Virologia do IP, por meio de análise estatística pelo índice de concordância, sensibilidade, especificidade e acurácia nos testes de IFD, IVCC e IVC. Para essa avaliação foram utilizados resultados obtidos na rotina de diagnóstico do Laboratório de Virologia do IP, no período de 2008 a 2016, em 6.514 amostras de Sistema Nervoso Central (SNC) de diferentes espécies animais. A IFD foi a técnica que apresentou melhores resultados de sensibilidade (93,58%), especificidade (95,90%) e acurácia (95,67%). Para o IVCC os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia foram inferiores a IFD sendo 70,42%, 86,16% e 84,62%, respectivamente. A concordância entre o IVCC e IFD foi moderada com índice de kappa $k = 0,341$. A sensibilidade, especificidade e acurácia do IVC foi de 89,58%, 100% e 98,97%, respectivamente. A concordância entre o IVC e IFD, teve um valor de k substancial (0,720). A IFD, considerada padrão ouro, mostrou-se efetiva em todos os animais, com exceção de equinos. A partir destes resultados analisados foi possível inferir que a IFD apresentou resultados satisfatórios, porém o IVCC não apresentou resultados favoráveis para ser utilizado como uma técnica confirmatória, assim, faz-se necessário uma avaliação do fluxo estabelecido no diagnóstico do Laboratório de Virologia do Instituto Pasteur.

PALAVRAS-CHAVE: Raiva. Imunofluorescência. Isolamento viral em camundongo. Isolamento viral em cultivo celular. Diagnóstico laboratorial.

Estudo comparativo entre as técnicas de imunofluorescência direta, isolamento viral em camundongos e isolamento viral em cultivo celular utilizadas no diagnóstico da raiva/Nasraui ACR, Kawai JGC (orientadora)

Comparative study among direct fluorescent antibody, mouse inoculation test and rabies tissue culture infection test used in rabies diagnosis

Adriana Candido Rodrigues Nasraui; Juliana Galera Castilho Kawai (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2020.

ABSTRACT

The laboratory diagnosis of rabies is of fundamental importance for the evaluation of suspected cases of rabies virus infection (RABV) and the techniques used must have high sensitivity and specificity, as well as speed in obtaining the results. In rabies diagnosis, confirmation of the result of the direct fluorescent antibody (FAT) through viral isolation (IV) is recommended. As mouse inoculation test (MIT) is being replaced by rabies tissue culture infection test (RTCIT) for ethical reasons, studies are needed to evaluate the use of the RTCIT technique in the routine diagnosis of rabies in the Pasteur Institute (IP). The objective of this study was to evaluate the flow of rabies diagnosis at the IP Virology laboratory, by means of statistical analysis by the index of concordance, sensitivity, specificity and accuracy of the FAT, RTCIT and MIT tests. For this evaluation, results obtained in the diagnostics routine of the Virology Laboratory of IP from 2008 to 2016 were used in 6,514 samples of Central Nervous System (CNS) from different animals. FAT was the technique that presented the best results of sensitivity (93.58%), specificity (95.90%) and accuracy (95.67%). For the RTCIT, the values of sensitivity, specificity and accuracy were lower than FAT with 70.42%, 86.16% and 84.62%, respectively. The concordance between the RTCIT and FAT was moderate with kappa quotient $k = 0.341$. The sensitivity, specificity and accuracy of the MIT was 89.58%, 100% and 98.97%, respectively. The concordance between the MIT and FAT, had a substantial k value (0.720). FAT, considered the gold standard, was effective in all animals, except horses. From these analyzed results it was possible to infer that the FAT presented satisfactory results, however the RTCIT did not present favorable results to be used as a confirmatory technique, thus, it is necessary to evaluate the flow established in the diagnosis of the Virology Laboratory of Pasteur Institute.

KEYWORDS: Rabies. Direct fluorescent antibody. Mouse inoculation test. Rabies tissue culture infection test. Laboratory diagnosis.

Estudo comparativo entre as técnicas de imunofluorescência direta, isolamento viral em camundongos e isolamento viral em cultivo celular utilizadas no diagnóstico da raiva/Nasraui ACR, Kawai JGC (orientadora)

Resposta à pandemia de COVID-19 no estado de São Paulo

Response to the COVID-19 pandemic in the state of São Paulo

Telma RMP Carvalhanas, Bernadete L Liphhaus, Pamela Cristina de C Lucas, Camila M Trevisan, Camila Lorenz, Lucca Nielsen, Caroline Salomão Simões, Margarete Oliveira Messias, Pedro de Campo M Monteiro, Raquel Gardini S Palasio, Angela T Tanamachi, Marcela R da Silva, Ana Lucia F Yu.

Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR), Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” (CVE), Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), São Paulo, Brasil.

RESUMO

Há quase dois anos o mundo protagoniza um dos maiores experimentos científicos da humanidade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reportou, na primeira quinzena de novembro de 2021, tendência ascendente de relatos de casos novos semanais e mortes adicionais de COVID-19. No período, a Região Europeia relatou aumento no número de casos e mortes, enquanto outras áreas informaram declínio ou tendências estáveis. No estado de São Paulo (ESP), até 12/11/2021, houve o registro de 4.417.592 casos de COVID-19 e 152.539 óbitos. Até o momento, houve a aplicação de 74.407.847 doses de vacina no ESP. Segundo a rede de alerta das variantes do Sars-CoV-2 no ESP, até outubro de 2021, foram identificadas variantes de preocupação, sendo as mais prevalentes a VOC GAMA (59,4%), seguida pela VOC DELTA (34,3%). Este projeto tem como objetivo fortalecer e incrementar as respostas de vigilância epidemiológica frente à pandemia de COVID-19. Destacam-se os objetivos específicos e metas em resposta à pandemia de COVID-19 no ESP:

- manter vigilância ativa para avaliação de 100% dos casos de SRAG hospitalizados (suspeitos de COVID-19);
- investigar e monitorar 100% das internações hospitalares (SRAG-SIVEPGripe);
- atualizar regularmente as informações epidemiológicas referentes aos casos de SRAG e óbitos de covid-19, e aos surtos de Síndrome Gripal (SG);

Resposta à pandemia de COVID-19 no estado de São Paulo/Telma RMP Carvalhanas et al.

- monitorar e analisar continuamente o comportamento epidemiológico dos casos/óbitos de SRAG/SIM-P/A e os casos reportados de reinfecção;
- identificar, investigar e responder a situações inusitadas (agregados de casos/óbitos e surtos);
- anuir, assessorar e apoiar, quando necessário, as ações de monitoramento, investigação e controle desenvolvidas pelos GVE e vigilâncias municipais;
- monitorar e avaliar a evolução da transmissão do Sars-CoV-2 no ESP e o impacto das medidas implementadas;
- dialogar com a vigilância epidemiológica de outros estados da federação, Ministério da Saúde e OPAS, no sentido de agregar parcerias e fortalecer as ações de vigilância e controle no estado;
- promover a divulgação das informações sobre a evolução da pandemia, por meio da análise dos indicadores epidemiológicos da COVID-19 e da comunicação de risco (fóruns/web/sites), publicações científicas, mídias sociais etc.

As atividades desenvolvidas pela DDTR e seus respectivos produtos estão vinculados às gestões de: sistema de informação/operacional; produtos; participativa; comunicação e, projetos multissetoriais. É fundamental uma vigilância contínua para manter a COVID-19 sob controle, considerando-se a emergência de novas variantes e a tendência à diminuição da resposta imune resultantes de vacinas de primeira geração. Em suma, ainda há um longo caminho a ser percorrido antes de ser decretado o fim da crise sanitária, haja vista o recrudescimento de casos, atualmente, no continente europeu, o desempenho da vacinação em curso, as síndromes pós-COVID e seus impactos na qualidade de vida, e a dificuldade em estabelecer critérios para definir o fim da pandemia, em nível global. Portanto, justifica-se a continuidade dos processos de monitoramento de casos e óbitos relativos à COVID-19 em território paulista e, por conseguinte, no país.

Projeto realizado com apoio do FESIMA.

PALAVRAS-CHAVE: Pandemia. Coronavírus. Epidemiologia. COVID-19.

Correspondência para/Correspondence to:

Telma RMP Carvalhanas

E-mail: dvresp@saude.sp.gov.br.

Resposta à pandemia de COVID-19 no estado de São Paulo/Telma RMP Carvalhanas et al.

Instruções aos autores

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arbitragem

Os manuscritos submetidos ao BEPA devem atender às instruções aos autores, que seguem as diretrizes dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos, editados pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (Committee of Medical Journals Editors - Grupo de Vancouver), disponíveis em: <http://www.icmje.org/>

Processo de revisão

Os trabalhos publicados no BEPA passam por processo de revisão por especialistas. A Coordenação Editorial faz uma revisão inicial para avaliar se os autores atenderam aos padrões do boletim, bem como às normas para o envio dos originais. Em seguida, artigos originais e de revisão são encaminhados a dois revisores da área pertinente, sempre de instituições distintas daquela de origem dos artigos, e cegos quanto à identidade e vínculo institucional dos autores. Após receber os pareceres, os Editores, que detêm a decisão final sobre a publicação ou não dos trabalhos, avaliam a aceitação dos artigos sem modificações, a recusa ou a devolução aos autores com as sugestões apontadas pelos revisores.

Tipos de conteúdo

1. Artigo original – Apresenta resultados originais provenientes de estudos sobre quaisquer aspectos da prevenção e controle de riscos e agravos e de promoção da saúde, desde que no escopo da epidemiologia, incluindo relatos de casos, surtos e/ou vigilância. Esses artigos devem ser baseados em novos dados ou perspectivas relevantes para a saúde pública. Devem relatar os resultados a partir de uma perspectiva de saúde pública, podendo, ainda, ser replicados e/ou generalizados por todo o sistema (o que foi encontrado e o que

a sua descoberta significa). Extensão máxima de 6.000 palavras; 10 ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos); 40 referências bibliográficas. Resumo em português e em inglês (abstract), com no máximo 250 palavras, e entre três e seis palavras-chave (keywords).

2. Revisão – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo os limites do tema. Extensão máxima de 6.000 palavras; resumo (abstract) de até 250 palavras; entre três e seis palavras-chave (keywords); sem limite de referências bibliográficas; seis ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos).

3. Artigos especiais – São textos não classificáveis nas categorias acima referidas, aprovados pelos Editores por serem considerados de especial relevância. Sua revisão admite critérios próprios, não havendo limite de tamanho ou exigências prévias quanto à bibliografia.

4. Comunicações rápidas – São artigos curtos destinados à divulgação de material original e significativo na área de vigilância em saúde. Sua apresentação deve acompanhar as normas exigidas para artigos originais. A sua publicação em versão impressa pode ser antecedida de divulgação em meio eletrônico. Extensão máxima de 2.000 palavras; sendo opcional a inclusão de resumo (até 150 palavras), palavras-chave (entre três e seis), ilustrações e referências. É recomendável que os autores das comunicações rápidas apresentem, posteriormente, um artigo mais detalhado.

5. Informe epidemiológico ou entomológico – Tem por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas públicos de informação sobre doenças, agravos, vetores e programas de prevenção ou eliminação. Sua estrutura é semelhante à do artigo original, porém sem resumo ou palavras-chave; extensão máxima de 5.000 palavras; 15 referências; quatro ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos).

6. Informe técnico – Texto institucional que tem por objetivo definir procedimentos, condutas e normas técnicas das ações e atividades desenvolvidas no âmbito da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP). Inclui, ainda, a divulgação de práticas, políticas e orientações sobre promoção à saúde e prevenção e controle de riscos e agravos. Extensão máxima de 5.000 palavras; seis ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos); 30 referências bibliográficas. Não inclui resumo nem palavras-chave.

7. Resumo – Serão aceitos resumos de teses e dissertações até dois anos após a defesa. Devem conter os nomes do autor e do orientador, título do trabalho (em português e inglês), nome da instituição em que foi apresentado em defesa. No máximo 250 palavras e entre três e seis palavras-chave.

8. Atualizações – Textos que apresentam, sistematicamente, atualizações de dados estatísticos gerados pelos órgãos e programas de prevenção e controle de riscos, agravos e doenças do Estado de São Paulo. Até 3.000 palavras e oito ilustrações. Não inclui resumo nem palavras-chave.

9. Relatos de encontros – Devem focar o conteúdo do evento e não sua estrutura. Extensão máxima de 2.000 palavras; 10 referências (incluindo eventuais links para a íntegra do texto). Não incluem resumo nem palavras-chave.

10. Notícias – São informações oportunas de interesse para divulgação no âmbito da saúde pública. Até 600 palavras, sem a necessidade de referências.

11. Recortes Históricos – Texto com informações que registram determinado período, personagem ou fato da história da saúde pública e da ciência. Sua revisão admite critérios próprios da Coordenação Editorial. A inclusão de bibliografia é opcional.

12. Cartas – As cartas permitem comentários sobre artigos veiculados no BEPA, e podem ser apresentadas a qualquer momento após a sua publicação. No máximo 600 palavras, sem ilustrações.

13. Relato de ações de vigilância – Relato conciso de projetos e ações de vigilância em saúde pública que impactaram diretamente na população. Devem apresentar a experiência em ordem cronológica, apontando os resultados da ação e considerações finais. Até 600 palavras. Não necessita resumo ou referências. Podem conter fotografias/ figuras.

Observação: Informes técnicos, Informes epidemiológicos, Atualizações e Relatos de encontros devem ser acompanhados de carta de anuência do diretor da instituição à qual o(s) autor(es) e o objeto do artigo estão vinculados.

APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS

A cada trabalho deverá ser anexada uma carta de apresentação, assinada por todos os autores, dirigida à Coordenação Editorial do Boletim Epidemiológico Paulista. Nela deverão constar as seguintes informações: o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico; nenhum autor tem vínculos comerciais que possam representar conflito de interesses com o trabalho desenvolvido; todos os autores participaram da elaboração do seu conteúdo (elaboração e execução, redação ou revisão crítica, aprovação da versão final).

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados. Nesse sentido, os autores devem explicitar, em MÉTODOS, que a pesquisa foi concluída de acordo com os padrões exigidos pela Declaração de Helsinki e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Instrução aos autores

O trabalho deverá ser redigido em Português (BR), com entrelinhamento duplo. O manuscrito deve ser encaminhando em formato eletrônico (e-mail) aos cuidados da Coordenação Editorial do BEPA, no seguinte endereço:

Submissões

<https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/BEPA182/about/submissions>

Estrutura dos textos

O manuscrito deverá ser apresentado segundo a estrutura das normas de Vancouver: título; autores e instituições; resumo e abstract; introdução; metodologia; resultados; discussão e conclusão; agradecimentos; referências bibliográficas; e tabelas, figuras e fotografias.

Página de rosto

Contém o título do artigo, que deve ser conciso, específico e descritivo, em português e inglês. Em seguida, deve ser colocado o nome completo de todos os autores e a instituição a que pertencem; indicação do autor responsável pela troca de correspondência; se subvencionado, indicar o nome da agência de fomento que concedeu o auxílio e o respectivo nome/número do processo; se foi extraído de dissertação ou tese, indicar título, ano e instituição em que foi apresentada.

Resumo

Colocado no início do texto, deve conter a descrição, sucinta e clara, dos propósitos do estudo, metodologia, resultados, discussão e conclusão do artigo. Em muitos bancos de dados eletrônicos o resumo é a única parte substantiva do artigo indexada e, também, o único trecho que alguns leitores leem. Por isso, deve refletir, cuidadosamente, o conteúdo do artigo.

Palavras-chave (descritores ou unitermos)

Seguindo-se ao resumo, devem ser indicadas no mínimo três e no máximo seis palavras-chave do conteúdo, que têm por objetivo facilitar indexações cruzadas dos textos e publicações pela base de dados, juntamente com o resumo. Em português, as palavras-chave deverão ser extraídas do vocabulário Descritores em Ciências em Saúde (DeCS), da Bireme (<http://decs.bvs.br/>); em inglês, do Medical Subject Headings (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>).

Caso não sejam encontradas palavras-chave adequadas à temática abordada, termos ou expressões de uso corrente poderão ser empregados.

Introdução

Iniciada em página nova, contextualiza o estudo, a natureza das questões tratadas e sua significância. A introdução deve ser curta, definir o problema estudado, sintetizar sua importância e destacar as lacunas do conhecimento abordadas.

Metodologia (Métodos)

Deve incluir apenas informação disponível no momento em que foi escrito o plano ou protocolo do estudo (toda a informação obtida durante a condução do estudo pertence à seção de resultados). Deve conter descrição, clara e sucinta, acompanhada da respectiva citação bibliográfica, dos procedimentos adotados, a população estudada (universo e amostra), instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação e método estatístico. Devem ser apresentados em sequência lógica no texto, tabelas e figuras, colocando primeiramente as descobertas principais ou mais importantes. Os resultados encontrados devem ser descritos sem incluir interpretações e/ou comparações. Sempre que possível, devem ser apresentados em tabelas e figuras autoexplicativas e com análise estatística, evitando-se sua repetição no texto.

Discussão

Deve começar com a apreciação das limitações do estudo, seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, explorando adequada e objetivamente os resultados.

Conclusão

Traz as conclusões relevantes, considerando os objetivos, e indica formas de continuidade do trabalho.

Agradecimentos

Em havendo, deve-se limitar ao mínimo possível, sempre ao final do texto.

Citações bibliográficas

A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Ao longo do artigo, o número de cada referência deve corresponder ao número sobrescrito, colocado sem parênteses e imediatamente após a respectiva citação. Devem ser numeradas, a partir daí, consecutivamente.

Exemplo:

“No Brasil, a hanseníase ainda é um problema a ser equacionado e, no Estado de São Paulo, há várias regiões com altas taxas de detecção.¹ Dentre as diversas medidas tomadas pelo Ministério da Saúde (MS)² para eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública no País, atingindo a prevalência de um caso para cada 10 mil habitantes, destacam-se as ações de educação e informação, preconizadas para todos os níveis de complexidade de atenção.”

Referências bibliográficas

Listadas ao final do trabalho, devem ser numeradas de acordo com a ordem em que são citadas no texto. A quantidade de referências deve se limitar ao definido em cada tipo de artigo aceito pelo BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista.

A normalização das referências deve seguir o estilo Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (Vancouver), <http://www.icmje.org/>

Para referências cujos exemplos não estejam contemplados neste texto, consultar os links: Guia de Apresentação de Teses (Modelo para Referências) da Faculdade de Saúde Pública/USP, http://www.bvsp.fsp.usp.br:8080/html/pt/paginas/guia/i_anexo.htm ou Citing Medicine, 2nd edition, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>

Segundo as normas de Vancouver, os títulos de periódicos são abreviados conforme aparecem na Base de dados PubMed, da US National Library of Medicine, disponível no site <http://www.pubmed.gov>, selecionando Journals Database.

Para consultar títulos de periódicos nacionais e latino-americanos:

<http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>.

Exemplos de Referências:

a) Artigos de periódicos:

Se a publicação referenciada apresentar dois ou mais autores, indicam-se até os seis primeiros, seguidos da expressão et al.

1. Opromolla PA, Dalbem I, Cardim M. Análise da distribuição espacial da hanseníase no Estado de São Paulo, 1991-2002. Rev bras epidemiol. 2005;8(4):356-64.

2. Ponce de Leon P, Valverde J, Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris Lumbricoides*. Rev latinoam microbiol. 1992;34:33-8.

3. Carlson K. Reflections and recommendations on reserch ethics in developing countries. Soc Sci Med. 2002;54(7):1155-9.

b) Livros:

1. Pierson D, organizador. Estudos de ecologia humana: leituras de sociologia e antropologia social. São Paulo: Martins Fontes; 1948.

A indicação da edição é necessária a partir da segunda.

c) Capítulos de livro:

1. Wirth L. História da ecologia humana. In: Pierson D, organizador. Estudos de ecologia humana: leituras de sociologia e antropologia social. São Paulo: Martins Fontes; 1948. p.64-76.

d) Autoria corporativa:

1. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. Amamentação e uso de drogas. Brasília (DF); 2000.

2. Organización Mundial de la Salud. Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

e) Dissertações de mestrado, teses e demais trabalhos acadêmicos:

1. Moreira MMS. Trabalho, qualidade de vida e envelhecimento [dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2000.

2. Rotta CSG. Utilização de indicadores de desempenho hospitalar como instrumento gerencial [tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2004.

f) Trabalhos apresentados em congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

1. Levy MSF. Mães solteiras jovens. In: Anais do 9º Encontro Nacional de Estudos

Populacionais; 1994; Belo Horizonte, BR. São Paulo: Associação Brasileira de Estudos Populacionais; 1995. p. 47-75.

2. Fischer FM, Moreno CRC, Bruni A. What do subway workers, commercial air pilots, and truck drivers have in common? In: Proceedings of the 12. International Triennial Congress of the International Ergonomics Association; 1994 Aug 15-19; Toronto, Canada. Toronto: IEA; 1994. v. 5, p. 28-30.

g) Documentos eletrônicos:

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE [boletim na internet]. Síntese de indicadores sociais 2000 [acesso em 5 mar. 2004]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>

2. Sociedade Brasileira de Pediatria. Calendário de vacinas para crianças/2008 [base de dados na internet]. Disponível em: http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=21&id_detalhe=2619&tipo_detalhe=s&print=1

3. Carvalho MLO, Pirotta KCM, Schor N. Participação masculina na contracepção pela ótica feminina. Rev Saúde Pública [periódico na internet]. 2001 [acesso em 25 maio 2004];35:23-31. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-9102001000100004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt) Legislação:

4. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União. 18 set. 2003; Seção 1:14.

5. São Paulo (Estado). Lei n. 10.241, de 17 de março de 1999. Dispõe sobre os direitos dos usuários dos serviços e das ações de saúde no Estado e dá outras providências. Diário Oficial do Estado de São Paulo. 18 mar. 1999; Seção 1:1.

6. Casos não contemplados nestas instruções devem ser citados conforme indicação do Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver), disponível em <http://www.cmje.org>.

Tabelas - devem ser apresentadas em folhas separadas ou arquivo a parte, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto. A cada uma deve ser atribuído um título breve, evitando-se linhas horizontais ou verticais. Notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas, não no cabeçalho ou título. Os arquivos não poderão ser apresentados em formato de imagem.

Quadros

São identificados como tabelas, seguindo numeração única em todo o texto. A exemplo das tabelas, devem ser apresentados, da mesma forma, em folhas separadas ou arquivo a parte, numerados consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citados no texto. Também não poderão ser apresentados no formato de imagem.

Figuras

Fotografias, desenhos, gráficos etc., citados como figuras, devem ser numerados consecutivamente, em algarismos arábicos, na ordem em que forem mencionados no texto, por número e título abreviado no trabalho. As legendas devem ser apresentadas conforme as tabelas. As ilustrações devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução, em resolução de no mínimo 300 dpi.

Orientações Gerais

Tabelas, ilustrações e outros elementos gráficos devem ser nítidos e legíveis, em alta resolução. Se já tiverem sido publicados, mencionar a fonte e anexar a permissão para reprodução. O número de elementos gráficos está limitado ao definido em cada tipo de artigo aceito pelo BEPA. Abreviaturas, quando citadas pela primeira vez, devem ser explicadas.

Boletim Epidemiológico Paulista

Volume 18 • Número 215 • Novembro/2021