

Informe semanal sarampo – Brasil, semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020

Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis (CGPNI/DEIDT/SVS); Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde (CGLAB/DAEVS/SVS)*

Sumário

- 1 Informe semanal sarampo – Brasil, semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020
- 7 Boletim de vigilância laboratorial dos arbovírus

Sarampo é uma doença viral, infecciosa aguda, transmissível e extremamente contagiosa. É uma doença grave, principalmente em crianças menores de cinco anos de idade, pessoas desnutridas e imunodeprimidas. A transmissão do vírus ocorre de forma direta de pessoas doentes ao espirrar, tossir, falar ou respirar próximo a pessoas que não apresentam imunidade contra o vírus do sarampo, o que torna evidente a importância da vacinação, conforme recomendações do Ministério da Saúde.

Este informe tem por objetivo apresentar a atualização semanal sobre o cenário do sarampo no país.

Situação epidemiológica do sarampo no Brasil

O Brasil registrou casos de sarampo em 21 unidades federadas (Figura 1). Dessas, 17 interromperam a cadeia de transmissão do vírus, e quatro mantêm o surto ativo: Pará, Rio de Janeiro, São Paulo e Amapá.

No Brasil, entre as semanas epidemiológicas 1 a 53 de 2020 (29/12/2019 a 2/1/2021), foram notificados 16.795 casos de sarampo, confirmados 8.442 (50,3%), descartados 7.953 (47,4%) e estão em investigação 400 (2,4%) (Figura 2).

Os estados do Pará, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Amapá concentram o maior número de casos confirmados de sarampo, totalizando 8.163 (96,7%) casos (Tabela 1). Os óbitos por sarampo ocorreram nos estados do Pará 5 (71,4%), Rio de Janeiro 1 (14,3%) e São Paulo 1 (14,3%) (Tabela 1).

Ministério da Saúde

Secretaria de Vigilância em Saúde
SRTVN Quadra 701, Via W5 – Lote D,
Edifício PO700, 7º andar
CEP: 70.719-040 – Brasília/DF
E-mail: svs@saude.gov.br
Site: www.saude.gov.br/svs

Versão 1

13 de janeiro de 2021

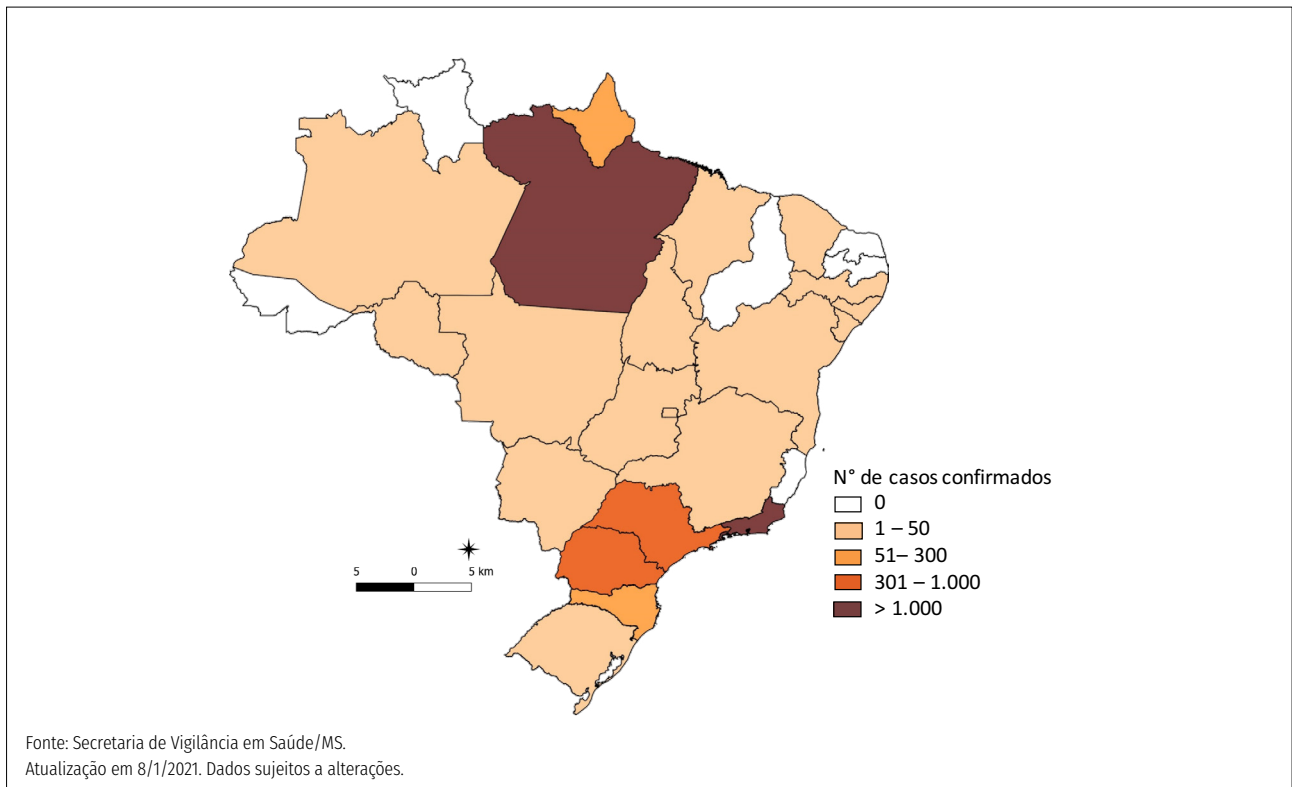


FIGURA 1 Casos confirmados de sarampo por unidade federada, Brasil, semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020

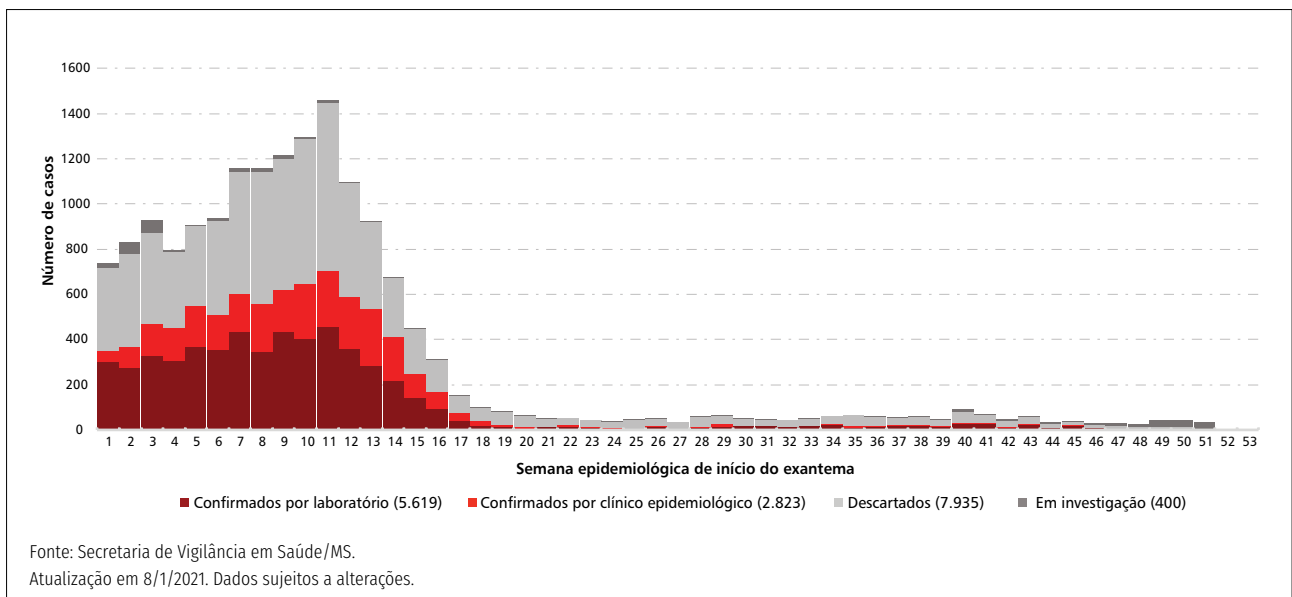


FIGURA 2 Distribuição dos casos de sarampo por semana epidemiológica do início do exantema e classificação final, Brasil, semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020

TABELA 1 Casos confirmados e óbitos por sarampo por unidade da federação, Brasil, semanas epidemiológicas 1 a 52, 2020

ID	UF	Confirmados		Óbitos	
		N	%	N	%
1	Pará	5.383	63,8	5	71,4
2	Rio de Janeiro	1.348	16,0	1	14,3
3	São Paulo	866	10,3	1	14,3
4	Paraná	377	4,5	0	0,0
5	Amapá	189	2,2	0	0,0
6	Santa Catarina	110	1,3	0	0,0
7	Rio Grande do Sul	37	0,4	0	0,0
8	Pernambuco	34	0,4	0	0,0
9	Minas Gerais	21	0,2	0	0,0
10	Maranhão	17	0,2	0	0,0
11	Ceará	9	0,1	0	0,0
12	Goiás	8	0,1	0	0,0
13	Mato Grosso do Sul	8	0,1	0	0,0
14	Sergipe	8	0,1	0	0,0
15	Bahia	7	0,1	0	0,0
16	Rondônia	6	0,1	0	0,0
17	Distrito Federal	5	0,1	0	0,0
18	Amazonas	4	0,0	0	0,0
19	Alagoas	3	0,0	0	0,0
20	Mato Grosso	1	0,0	0	0,0
21	Tocantins	1	0,0	0	0,0
Total		8.442	100,0	7	100,0

Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde/MS.

Atualização em 8/1/2020. Dados sujeitos a alterações.

Vigilância laboratorial

A vigilância laboratorial do sarampo no Brasil é monitorada através da realização dos exames feitos pela Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (RNLSP). Os Lacen realizam tanto a sorologia para diagnóstico laboratorial do sarampo quanto o diagnóstico diferencial, sendo o ensaio de Elisa a metodologia oficial adotada para o diagnóstico laboratorial do sarampo, devido a sua sensibilidade e especificidade. O Laboratório de Referência Nacional (LRN)/Fiocruz realiza além da sorologia, a Biologia Molecular (RT-PCR em Tempo Real) e identificação viral, sendo este último o método mais específico para determinação do genótipo e linhagem do vírus responsável pela infecção possibilitando o mapeamento das cadeias de transmissão.

Devido ao atual cenário epidemiológico do sarampo no país, com o objetivo de interromper a circulação viral, para dar celeridade ao processo de encerramento dos casos

suspeitos e otimização de recursos (humanos, transporte de amostras e insumos), é recomendada a adoção de estratégias e condutas, frente aos resultados de Sorologia e Biologia Molecular liberados pelos Lacen, nos estados onde já há surto estabelecido (Figura 3).

As amostras coletadas com suspeitas de sarampo para diagnóstico por Biologia Molecular, que se enquadrem nos critérios demonstrados (Figura 3), deverão ser encaminhadas para o LRN (Fiocruz/RJ) com a identificação na ficha de notificação e na amostra descrevendo para qual critério se enquadram.

As recomendações da Figura 3 se aplicam apenas enquanto perdurar o surto de sarampo em determinado município ou estado. Após a interrupção do surto, deverão ser seguidos os fluxos preconizados pelo *Guia de Vigilância em Saúde* do Ministério da Saúde.

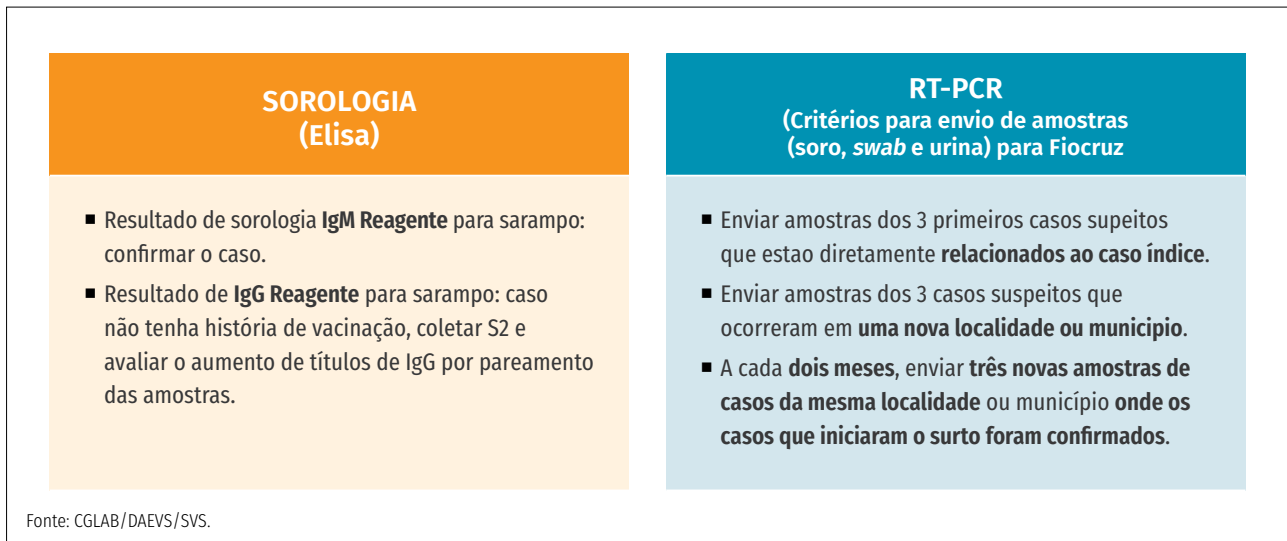


FIGURA 3 Estratégias a serem adotadas em municípios com surto ativo para envio de amostras para o diagnóstico de sarampo

Seguindo no cumprimento da estratégia de coleta para situação de surto, também deverá ser observado a lista de exceções abaixo. Então, mesmo em surto ativo deverá ser mantida a coleta de amostras de sangue (soro) para realizar sorologia e amostras biológicas para realizar RT-PCR, de acordo com as orientações prévias contidos no *Guia de Vigilância em Saúde* (2019):

- primeiros 10 casos suspeitos (de uma localidade sem casos confirmados);
- 3 a 4 casos suspeitos pertencentes a uma nova cadeia de transmissão;
- em novos municípios com caso confirmado pela sorologia;
- histórico de vacina tríplice ou tetra viral nos últimos 30 dias;
- município com reintrodução do vírus após 90 dias da data do exantema do último caso;
- óbito;
- histórico de viagem a locais com evidência de circulação do vírus do sarampo;
- contato com estrangeiro;
- situações especiais definidas pela vigilância; e
- positividade concomitante para outra doença no diagnóstico diferencial.

Na Figura 4 observa-se que a maior parte dos exames realizados em território nacional foi analisado em tempo oportuno. Contudo, ressalta-se a importância desta informação, uma vez que para ser considerada oportuna a liberação do resultado do exame deverá necessariamente ocorrer em até quatro dias após o recebimento da amostra, favorecendo assim a implementação de medidas de controle e mitigação eficazes.

Além da classificação final dos casos de sarampo pelo critério laboratorial, esses casos podem ser encerrados pelo critério vínculo-epidemiológico ou critério clínico. Os que tenham a confirmação em laboratório privado, pelo método Elisa, devem ser encerrados pelo critério laboratorial. Os critérios são utilizados na impossibilidade de realização da coleta de exames laboratoriais, ou em situações de surto com transmissão ativa, todavia o critério clínico leva em consideração apenas a clínica compatível com a doença para confirmação do caso.

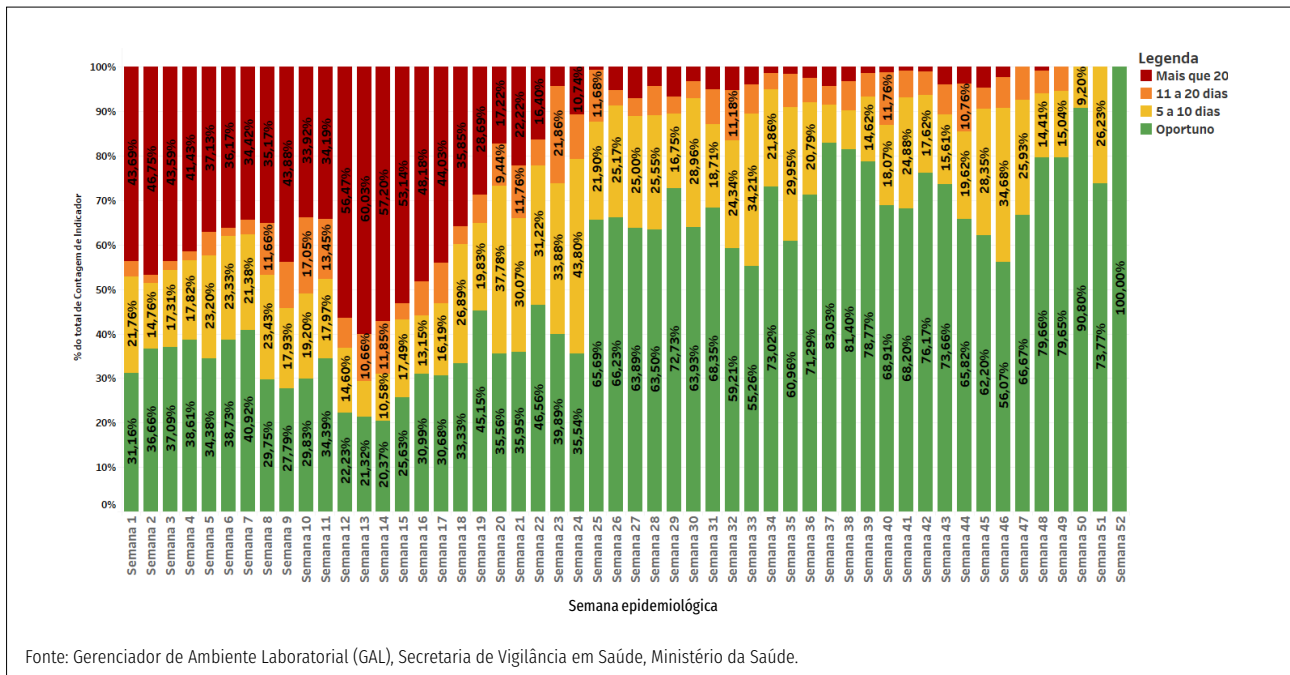


FIGURA 4 Oportunidade para análise laboratorial de exames para sarampo, por semana epidemiológica, segundo o GAL, Brasil, SE 1-52, 2020

Vacinação

A vacina tríplice viral (sarampo, caxumba e rubéola) está disponível na rotina dos serviços de saúde, conforme indicações do Calendário Nacional de Vacinação do Programa Nacional de Imunizações. Entretanto, neste momento, a realização das ações de vacinação deve considerar o cenário epidemiológico da covid-19, especialmente nas localidades onde há casos confirmados dessa doença, e que também apresentam circulação ativa do vírus do sarampo. Assim, tanto para a vacinação de rotina quanto para outras estratégias que visem interromper a cadeia de transmissão do sarampo, é necessária a adoção de medidas de proteção para os profissionais responsáveis pela vacinação e para a população em geral, buscando realizar a vacinação de forma segura, e ao mesmo tempo minimizar o risco de disseminação da covid-19.

Segundo Ofício Circular nº 212/2020/SVS/MS, de 23 de novembro de 2020, a Dose Zero da vacina tríplice viral fica suspensa nas unidades da federação que interromperam a circulação do vírus do sarampo, sendo mantida nos estados onde há transmissão da doença.

Em 25 de novembro, foi disponibilizado o Informe Técnico - “Estratégia de Recuperação do Esquema de Vacinação Atrasado de crianças menores de 5 anos de idade”, com o objetivo de recuperar esquemas de

vacinação atrasados de crianças menores de 5 anos de idade, incluindo a vacina tríplice viral.

Encontra-se em processo de revisão, o Plano Nacional para interromper a circulação do vírus do sarampo e eliminar a doença, o qual propõe resposta rápida, oportuna e articulada entre as diversas áreas envolvidas com o enfrentamento do sarampo.

Recomendações do Ministério da Saúde

- Fortalecer a capacidade dos sistemas de Vigilância Epidemiológica do sarampo e reforçar as equipes de investigação de campo para garantir a investigação oportuna e adequada dos casos notificados.
- Unidades federadas devem informar oportunamente ao Ministério da Saúde sobre os casos notificados, confirmados, descartados e pendentes, por meio do Boletim de Notificação Semanal (BNS). O conteúdo das informações viabiliza o planejamento de ações e insumos nos diferentes níveis de gestão para conter a circulação do vírus no país.
- A vacina é a medida preventiva mais eficaz contra o sarampo.
- Medidas de prevenção de doenças de transmissão respiratória também são válidas e os profissionais devem orientar a população sobre: a limpeza regular de

superfícies, isolamento domiciliar para a pessoa que estiver com suspeita ou em período de transmissão de doença exantemática, medidas de distanciamento social em locais de atendimento de pessoas com suspeita de doença exantemática, cobrir a boca ao tossir ou espirrar, uso de lenços descartáveis e higiene das mãos com água e sabão e/ou álcool em gel.

- Que estados e municípios atinjam a taxa de notificação de casos suspeitos de sarampo ≥ 2 casos por 100 mil habitantes, um indicador importante no processo de eliminação da doença, enquanto problema de saúde pública no país.
- Importância dos estados e municípios apresentarem planos para o enfrentamento da doença.

Referência

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento e Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde. ed. atual – Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

***Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis (CGPNI/DEIDT/SVS):** Francieli Fontana Sutile Tardetti Fantinato, Adriana Regina Farias Pontes Lucena, Aline Ale Beraldo, Cintia Paula Vieira Carrero, Josafá do Nascimento Cavalcante Filho, Luciana Oliveira Barbosa de Santana, Maria Izabel Lopes, Regina Célia Mendes dos Santos Silva, Rita de Cássia Ferreira Lins. **Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde (CGLAB/DAEVS/SVS):** Carla Freitas, Eduardo Regis Melo Filizzola, Leonardo Hermes Dutra, Liliane Barbosa Vieira, Rejane Valente Lima Dantas, Ronaldo de Jesus.

Boletim de vigilância laboratorial dos arbovírus

Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde (CGLAB/DAEVS/SVS).*

Contextualização

Arboviroses são doenças causadas por arbovírus transmitidos pela picada de vetores artrópodes, em sua maioria mosquitos e carrapatos. No Brasil os arbovírus são encontrados em duas famílias e dois gêneros principais de importância médica: *Flaviviridae* (*Flavivírus*) e *Togaviridae* (*Alphavírus*)¹.

O gênero *Flavivírus* é composto por várias espécies de arbovírus, inclusive com circulação autóctone comprovada no país. Dentre elas, aquelas que apresentam maior importância clínica para a saúde pública atualmente são: dengue (DENV), zika (ZIKV), febre amarela (YFV) e febre do Oeste do Nilo (WNV). Do mesmo modo, dentro do gênero *Alphavirus* tem-se como as espécies de principal relevância o chikungunya (CHIKV) e o mayaro (MAYV).

As principais manifestações clínicas decorrentes de infecções por arbovírus podem ser resumidas como a seguir: doença febril indiferenciada, em grau moderado a grave, artralgia e erupções cutâneas, podendo atingir patamares tais que configurem síndrome neurológica e/ou síndrome hemorrágica. A doença febril faz sintomatologia gripal com aspectos de febre, cefaleia, mialgia e dor retro-orbital. A manifestação neurológica faz mielite, meningite ou encefalite que podem ser acompanhadas de mudanças de comportamento além de paresia, convulsões e problemas de coordenação².

A dengue é a arbovirose urbana de maior relevância nas Américas. É transmitida por mosquitos do gênero *Aedes* e possui como agente etiológico o DENV, com quatro sorotipos distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 e 18 genótipos distribuídos entre eles³. Estima-se que 3 bilhões de pessoas no mundo são suscetíveis a contrair a doença e que anualmente o vírus infecta 390 milhões de pessoas causando 20 mil mortes⁴. Até a semana epidemiológica (SE) 36, foram notificados 928.282 casos prováveis (taxa de incidência de 441,7 casos por 100 mil habitantes) de dengue no país³.

No primeiro semestre de 2015, foi identificado pela primeira vez no continente americano, em alguns estados da região Nordeste do Brasil o ZIKV, outro vírus transmitido pelo *Aedes aegypti*. Desde então, o vírus disseminou-se para todo o país e demais países do continente americano, com exceção de Chile e Canadá. Até o momento são conhecidos e descritos dois genótipos do vírus: um africano e outro asiático⁴.

O WNV é transmitido por mosquitos do gênero *Culex*. Os hospedeiros naturais desse vírus são algumas espécies de aves silvestres, que atuam como amplificadoras e fonte de infecção para os mosquitos. O WNV possui apenas um sorotipo, mas demonstra variação genética significativa e diferem em pelo menos sete linhagens genéticas, no entanto, as linhagens 1 e 2 são as mais difundidas e são geralmente responsáveis pela maioria das epidemias encontradas até agora na Europa, África, Oriente médio, Américas e Oceania^{5,6}.

Outro importante *Flavivírus* é o YFV que se caracteriza pela sua relevância epidemiológica, com frequentes surtos registrados ao longo da série histórica nacional, pela gravidade clínica, com elevada letalidade nas formas graves, associados à expansão da área de circulação viral nas últimas décadas e à infestação por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* nos municípios brasileiros. Observou-se, no final de 2016 até 2017, o maior surto recente de YFV no país que atingiu grandes centros urbanos. A reemergência do vírus causou o maior impacto nas populações de primatas não humanos de que se tem notícia no país, afetando mais de 7 mil primatas não-humanos (PNH), com 1.412 epizootia, culminando em 777 casos humanos confirmados, com 261 óbitos⁶. O padrão de dispersão do vírus historicamente observado no Brasil é espaço-temporal, relacionado à circulação silvestre, na qual os PNH atuam como hospedeiros amplificadores e mosquitos silvestres atuam como vetores reservatórios e dispersores do vírus na natureza. Nesse contexto, o homem desempenha papel pouco importante como fonte de infecção para os mosquitos, apresentando-se como hospedeiro acidental.

O ciclo urbano de transmissão do vírus, em que o homem é o hospedeiro principal e fonte de infecção para o vetor urbano (*Ae. aegypti*), não é registrado no país desde 1942. Até o momento, quatro genótipos têm sido identificados: dois na África (Oeste Africano e Leste Africano) e outros dois na América (América do Sul I e América do Sul II).

O CHIKV pertence ao gênero *Alphavirus* e possui três genótipos: Oeste Africano, Leste-Centro-Sul Africano (ECSA, do inglês *East-Central-South-African*) e Caribe-Asiático³. No Brasil, até o momento foram detectadas as linhagens asiática e ECSA. A introdução do CHIKV no continente americano ocorreu em 2013 e ocasionou uma importante onda epidêmica em diversos países da América Central e nas ilhas do Caribe⁴. No segundo semestre de 2014, o Brasil confirmou, por métodos laboratoriais, a autoctonia nos estados do Amapá e da Bahia. Atualmente, todas as unidades da federação (UF) registram transmissão autóctone deste arbovírus. Esta arbovirose também pode se manifestar de forma atípica e/ou grave, sendo observado um elevado número de óbitos⁴.

O cenário epidemiológico do Brasil, caracterizado pela circulação simultânea dos DENV, CHIKV e ZIKV e, em menor escala, também YFV e WNV, além de outros arbovírus, constitui-se em um grande desafio tanto para a assistência quanto para a vigilância, em suas ações de identificação de casos suspeitos, no diagnóstico clínico e laboratorial oportunos, e no desencadeamento das ações de prevenção e controle. As arboviroses urbanas têm apresentado um desafio adicional na suspeita clínica inicial por compartilharem diversos sinais clínicos semelhantes, dificultando a adoção de manejo clínico adequado, predispondo o aumento na ocorrência de formas graves e, eventualmente, elevando o número de óbitos⁴.

A Vigilância Laboratorial tem desempenhado um papel importante no monitoramento das Arboviroses como uma evidência robusta e oportuna para as ações de vigilância em saúde. A gestão de insumos, o monitoramento dos exames e resultados laboratoriais, o diagnóstico diferencial e a Rede Nacional de Laboratórios em Saúde Pública (RNLSP) tornaram possíveis a adoção de medidas junto aos serviços no monitoramento das arboviroses no Brasil.

Estrutura da vigilância laboratorial das arboviroses no Brasil

A Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (RNLSP) é integrante do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (Sislab), constituído por 27 Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacen), nas 26 unidades federadas e no Distrito Federal, além dos Laboratórios de Referência Regional (LRR), Laboratório de Referência Nacional (LRN) e Centros Colaboradores (CC) para os diagnósticos laboratoriais complementares dos agravos de notificação compulsória.

Como rede de referência para diagnósticos laboratoriais complementares das arboviroses urbanas (DENV, CHIKV, ZIKV) têm-se o Instituto Evandro Chagas (IEC/SVS-MS) como LRN; e Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz-RJ), Instituto Adolfo Lutz (IAL/Lacen-SP), Lacen-PE/Fiocruz-PE, Lacen-DF, Lacen-PR/Fiocruz-PR como LRR (Figura 1)⁸.

Para o diagnóstico laboratorial da YFV em amostras a fresco, o IEC/SVS-MS é o LRN e LRR para os estados: Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá, Pará, Tocantins, Piauí, Alagoas e Pernambuco; o Lacen-DF é referência regional para o Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraíba; o IAL/Lacen-SP tem como área de abrangência os estados São Paulo, Sergipe e Maranhão; a Fiocruz-RJ é referência regional para o Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Norte e Ceará; a Fiocruz-PR é referência regional para o Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Além dos laboratórios de referência, os Lacens Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Ceará, Bahia, Rio de Janeiro, Piauí, Roraima, Pernambuco, Amazonas, Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul realizam o diagnóstico de biologia molecular, tanto o protocolo de diagnóstico, como o protocolo diferencial selvagem versus vacinal^{7,8}.

Para o diagnóstico laboratorial da YFV em amostras em formol, o IEC/SVS-MS é o LRN e LRR para os estados: Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá, Pará, Piauí, Alagoas e Pernambuco. A UnB/DF, como centro colaborador, tem como área de abrangência os estados: Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Tocantins e recebe apenas amostras de primatas não humano. O IAL/Lacen-SP é referência regional para São Paulo, Sergipe, Mato Grosso do Sul, Paraíba e Maranhão. A Fiocruz-PR é responsável, como referência regional, pelos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O laboratório do INI/Fiocruz/RJ referência regional para

os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia, Rio Grande do Norte e Ceará.

Para o diagnóstico dos vetores da FA, o IEC/SVS-MS é o LRN e LRR para os estados: Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá, Pará, Piauí, Tocantins, Alagoas, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Pernambuco. O IAL/SP tem como áreas de abrangência: São Paulo, Sergipe, Maranhão, Mato Grosso do Sul e Paraíba. A Fiocruz/PR os estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina e a Fiocruz/RJ os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia, Rio Grande do Norte e Ceará.

Para o diagnóstico do WNV a rede foi recentemente ampliada, com a inserção de novos laboratórios reforçando tanto o diagnóstico virológico, como a patologia e os vetores. Para o diagnóstico laboratorial da febre do Nilo Ocidental em amostras a fresco, o IEC/SVS-MS é o LRN e LRR para os estados do Acre, Alagoas, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Tocantins, Rondônia e Roraima. A Fiocruz-RJ é referência regional para os estados da Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte. O IAL/SP é responsável pelos estados de São Paulo, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul e Sergipe e a Fiocruz/PR sendo responsável pelos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Para o diagnóstico laboratorial da WNV em amostras em formol (humano e reservatório), o IEC/SVS-MS é LRN e LRR para os estados: Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá, Pará, Alagoas, Paraíba, Pernambuco e Piauí. A Fiocruz/RJ é referência regional para os estados da Bahia, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Rio Grande do Norte, Ceará e Minas Gerais. O IAL/SP é responsável como referência regional pelos estados de São Paulo, Maranhão, Mato Grosso do Sul e Sergipe e a Fiocruz/PR é referência regional para os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul e a UnB, como centro colaborador, realiza análises dos reservatórios para os estados do Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Tocantins.

Para o diagnóstico laboratorial da WNV em amostra de vetores o IEC/SVS-MS é LRN e LRR para os estados: Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Amapá, Pará, Alagoas, Paraíba, Pernambuco e Piauí. A Fiocruz/RJ é responsável pelos estados da Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte. O IAL/SP para os estados do Maranhão, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Sergipe e a Fiocruz/PR para os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Os LRR e LRN são responsáveis pelas análises complementares às realizadas pelos Lacen que fazem parte da sua rede de abrangência.

Obtenção de amostras biológicas

As orientações para a coleta, de material biológico das arboviroses, armazenamento e conservação e acondicionamento e transporte são melhor exploradas no *Guia de Vigilância e Saúde*, 3 ed.⁸

Metodologias adotadas para o diagnóstico das arboviroses

Métodos Sorológicos

A detecção de imunoglobulinas (Igs) fornece uma janela mais ampla de oportunidade para o diagnóstico laboratorial, porque os anticorpos permanecem detectáveis no sangue por longo período de tempo, o que permite buscar evidências indiretas da ocorrência de infecção. O Elisa (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) ou ensaio de imunoabsorção enzimática, é um teste sorológico amplamente utilizado para o diagnóstico indireto de infecção por arbovírus, porém apresenta como limitação alta taxa de resultados falso-positivo, especialmente onde *Flavivirus* co-circulam^{8,9}. Os principais marcadores utilizados nas investigações associadas às arboviroses são as imunoglobulinas de classe M (resposta imunológica recente) e G (resposta imunológica tardia), além de detecção de antígenos, normalmente presentes em altas concentrações na amostra clínica do paciente em fase aguda da doença^{11,12}.

Outros métodos sorológicos utilizados em complementaridade são: o teste de inibição da hemaglutinação (IH); o teste de neutralização por redução de placas (PRNT); estudo anatomopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imunohistoquímica (IHQ) para os principais arbovírus.

Métodos de diagnóstico em virologia básica e molecular

Isolamento viral

Esse método diagnóstico consiste em utilizar amostras clínicas de pacientes suspeitos de infecção por arbovírus, coletadas em fase aguda da doença (período

virêmico) e inocular em cultivo celular de C6/36 (células de mosquitos *Aedes albopictus*) ou Vero (células de epitélio renal de macaco verde africano); seguindo de identificação etiológica por imunofluorescência indireta (IFI) utilizando anticorpos monoclonais e policlonais ou ainda RT-qPCR.

Transcriptase reversa seguida de Reação em Cadeia pela Polimerase em tempo real (RT-qPCR)

Após a extração do material genético das amostras clínicas proceder-se-á aos testes moleculares. Os ensaios moleculares são especialmente valiosos nos primeiros dias da infecção aguda, onde os níveis de RNA viral circulante estão elevados (período virêmico). O primeiro passo para a detecção viral dos arbovírus é a realização da extração de RNA. Esta etapa tem como objetivo extrair, concentrar o RNA, remover potenciais inibidores. Para alcançar o sucesso desta etapa é imprescindível que as sequências de RNA estejam íntegras e puras para que assim resultem em dados de alta qualidade e confiáveis na técnica de RT-qPCR.

Atualmente o método baseado em RT-qPCR com sonda de oligonucleotídeos marcado com fluorescência é o padrão ouro para o diagnóstico das arboviroses. A enzima transcriptase reversa gera um DNA complementar (cDNA) ao alvo RNA para fornecer um molde para a reação de PCR. A amplificação do alvo é frequentemente associada a sondas repórter fluorescentes específicas o que possibilita a detecção viral qualitativa. O ensaio de PCR em tempo real é uma técnica usada para o diagnóstico de rotina, em razão da alta sensibilidade, especificidade e o curto tempo para resposta.

As elevadas taxas de sensibilidade e especificidade, somadas à detecção de quantidades mínimas de material genético em amostras de pacientes, fazem do RT-qPCR um método para o diagnóstico na fase aguda da infecção (diagnóstico direto).

Sequenciamento

A técnica de sequenciamento genético é amplamente difundida na comunidade laboratorial e tem sido empregada com vigor nas últimas três décadas. Esta metodologia permite decodificar as sequências gênicas em formatos digitais que por sua vez são empregados em uma multitude de aplicações. Existem dois métodos de sequenciamento mais comumente utilizados, o químico ou de Maxam-Gilbert e o dos dideoxinucleotídeos ou de Sanger, que utiliza nucleotídeos inibidores

do alongamento da cadeia de ácido nucleico. No último caso, a determinação da sequência de bases nucleotídicas ocorre após eletroforese, com leitura automática da fluorescência por feixe de raio laser. O sequenciamento de nucleotídeos feito diretamente de produtos da PCR constitui uma técnica simples, eficiente, reduzindo o tempo de trabalho e despesas com procedimentos de clonagem.

Os métodos de sequenciamento de nova geração são fundamentados em fragmentação de sequências, amplificação por síntese e agrupamento das sequências em blocos comuns para produção de informação de alta densidade por métodos em bioinformática bem estabelecidos para detecção viral¹³.

Patologia clínica (histopatologia e imuno-histoquímica)

A histopatologia é um exame presuntivo, microscópico e colorimétrico que visa analisar os tecidos orgânicos acometidos por doenças, informando: a natureza, gravidade, extensão, evolução e intensidade das lesões. Geralmente, é feito a partir de uma biópsia (amostra de tecido coletada da área afetada) ou necropsia (investigação após óbito), a fim de verificar os padrões das lesões. Esse estudo pode ser feito em células de humanos e/ou animais.

A imuno-histoquímica (IHQ) combina técnicas imunológicas e bioquímicas buscando identificar antígenos virais, para compreender a distribuição dos focos virais, localização de biomarcadores e proteínas em diferentes partes de um tecido biológico. A visualização de uma interação antígeno-anticorpo pode ser obtida de diversas formas. Na situação mais comum, um anticorpo (policlonal ou monoclonal) é conjugado a uma enzima, como por exemplo a peroxidase, que pode catalisar uma reação que produzirá coloração. Alternativamente, o anticorpo pode também ser marcado com um fluoróforo.

Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL)

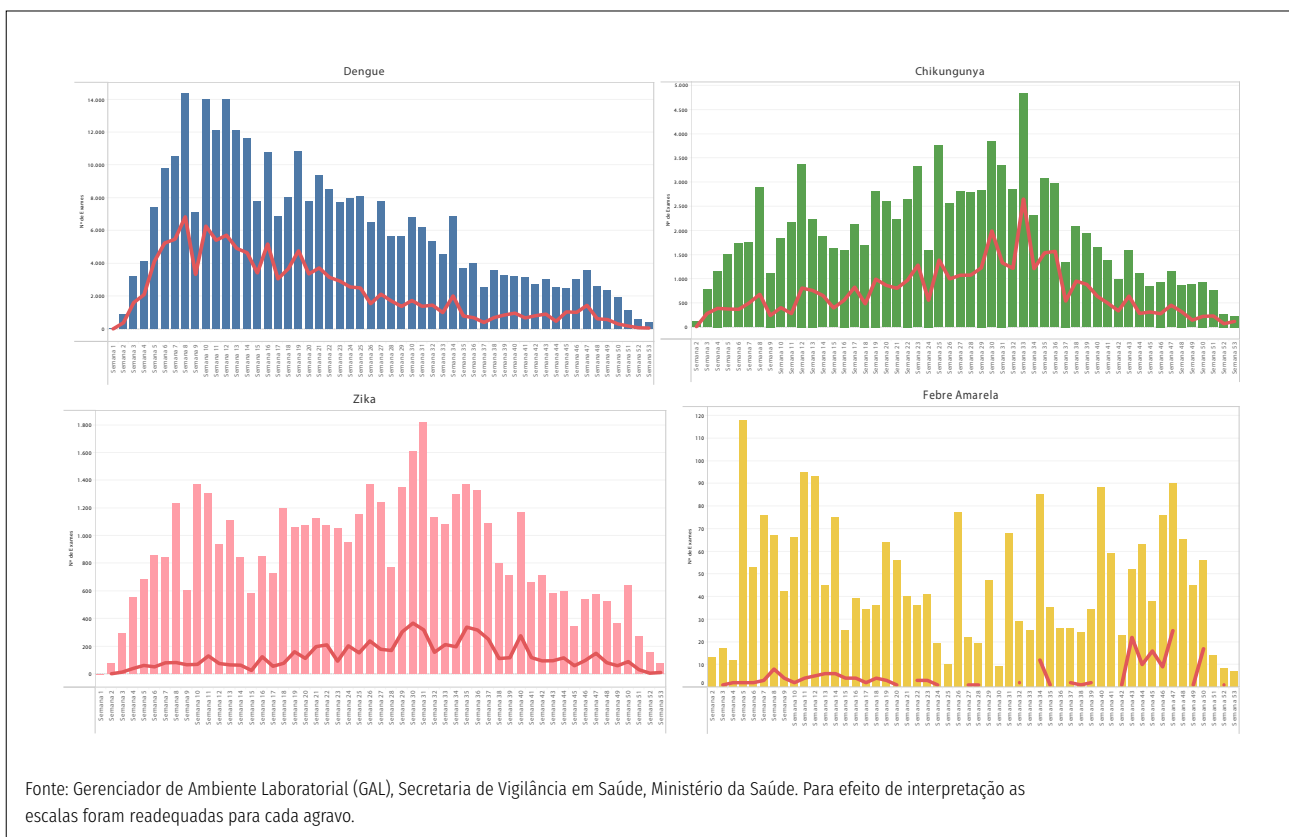
A Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB) monitora os dados de solicitações e resultados de exames das arboviroses, utilizando o Sistema GAL, o qual possibilita a realização de diversas formas de análise, cujas principais medidas são:

- acompanhar as realizações das análises laboratoriais desde a sua solicitação até a emissão do laudo final;
- confeccionar relatórios gerenciais e de produção de exames referentes à RNLSP;
- enviar informações laboratoriais a outros sistemas, por meio de *Application Program Interface* (API);
- subsidiar as tomadas de decisões pelas Vigilâncias nas esferas nacional, estadual e municipal.

O núcleo de informação desta Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde utiliza os dados do Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL – Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde) em rotinas computacionais para extração das informações atualizadas para cada agravo de forma automatizada. Os dados obtidos são processados em ambiente R e Tableau para geração das informações abaixo apresentadas.

Análises da vigilância laboratorial

Tomando como base o monitoramento de casos suspeitos humanos e dentro do período de 5/1/2020 a 31/12/2020 (SE1 - SE-53/2020), atualizado em 6 de janeiro de 2021, verificou-se que houve uma concentração das solicitações de exames para DENV e YFV entre as SE 1 e 12, seguido de queda significativa nestes eventos, compactuando com o início da pandemia por SARS-CoV-2. Posteriormente, houve um decréscimo no total de exames solicitados para essas doenças. O número de solicitações de exames para CHIKV e ZIKV manteve-se regular durante todo o período (Figura 1). A Figura 2 apresenta os totais de exames solicitados (cinza) e a positividade é representada pela linha vermelha, as barras azuis são exames realizados para DENV, realizados (verde) para CHIKV, realizados (rosa) para ZIKV e realizados (amarelo) para YFV. As escalas foram ajustadas para facilitar a visualização da informação.



Fonte: Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Para efeito de interpretação as escalas foram readequadas para cada agravo.

FIGURA 1 Número de exames solicitados, realizados e taxa de positividade para DENV, CHIKV, ZIKV e YFV, por semana epidemiológica no Brasil, até a SE-53/2020

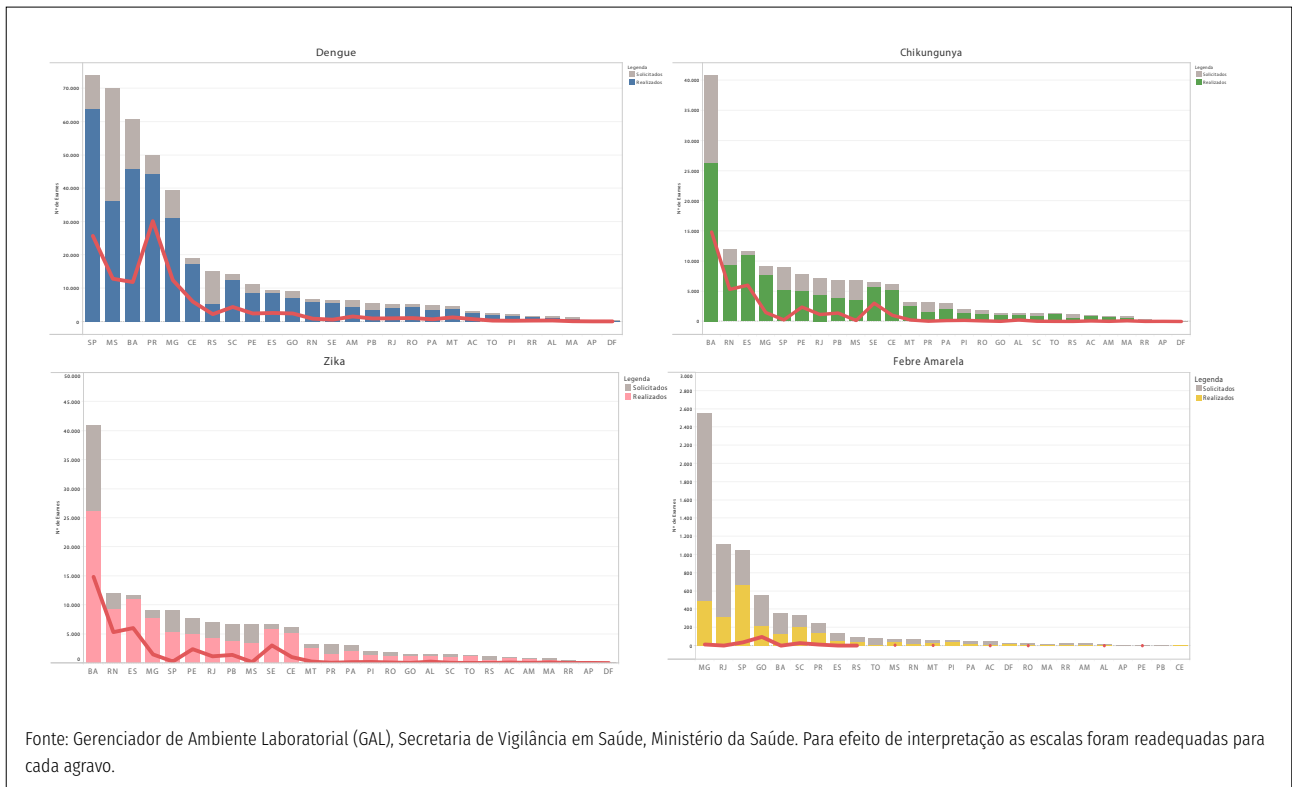


FIGURA 2 Número de exames solicitados, realizados e taxa de positividade para DENV, CHIKV, ZIKV e YFV, por UF de residência no Brasil, até a SE-53/2020

Através de uma análise mais detalhada é possível observar que o total de exames realizados para CHIKV e ZIKV se concentrou na região Nordeste e Sudeste do país. Já para a DENV, além dessas regiões, o número de

casos se concentrou na região Sul do país. No caso de YFV é possível observar uma maior concentração nas regiões Sul e Sudeste do país (Figura 3).

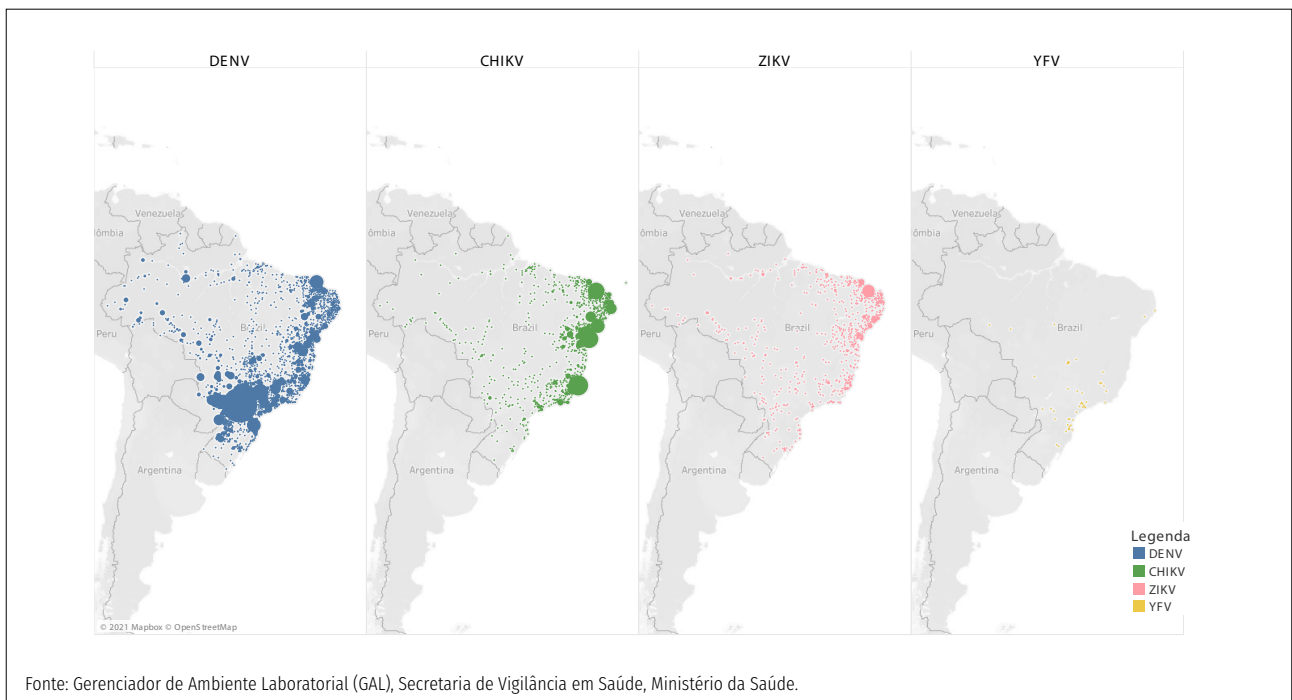


FIGURA 3 Distribuição de exames realizados para arboviroses, por UF de residência no Brasil até a SE-53/2020

Na Figura 4, vemos que DENV tem altos números de exames positivos no começo de 2020 até SE 19, seguida por quedas até ficar evidente que entre a semana epidemiológica 30 e 38, o total de exames positivos para CHIKV ultrapassou os exames positivos para DENV.

Concomitantemente observa-se a circulação em baixos níveis dos vírus ZIKV e YFV, cujos resultados positivos começaram a ser detectados no período das semanas 16 a 41 com aumento nas semanas 26 e 31.

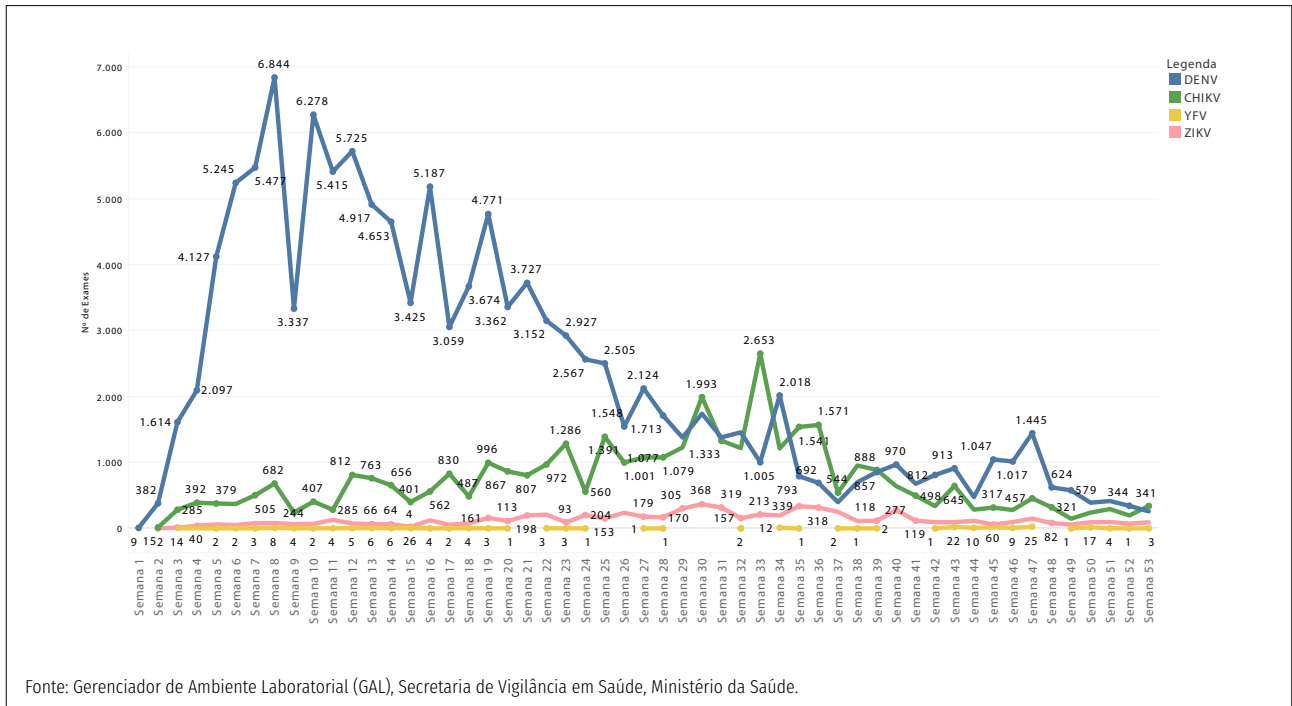


FIGURA 4 Distribuição da frequência absoluta de exames positivos para arboviroses, por todos os métodos e por semana epidemiológica no Brasil por data de liberação até a SE-53/2020

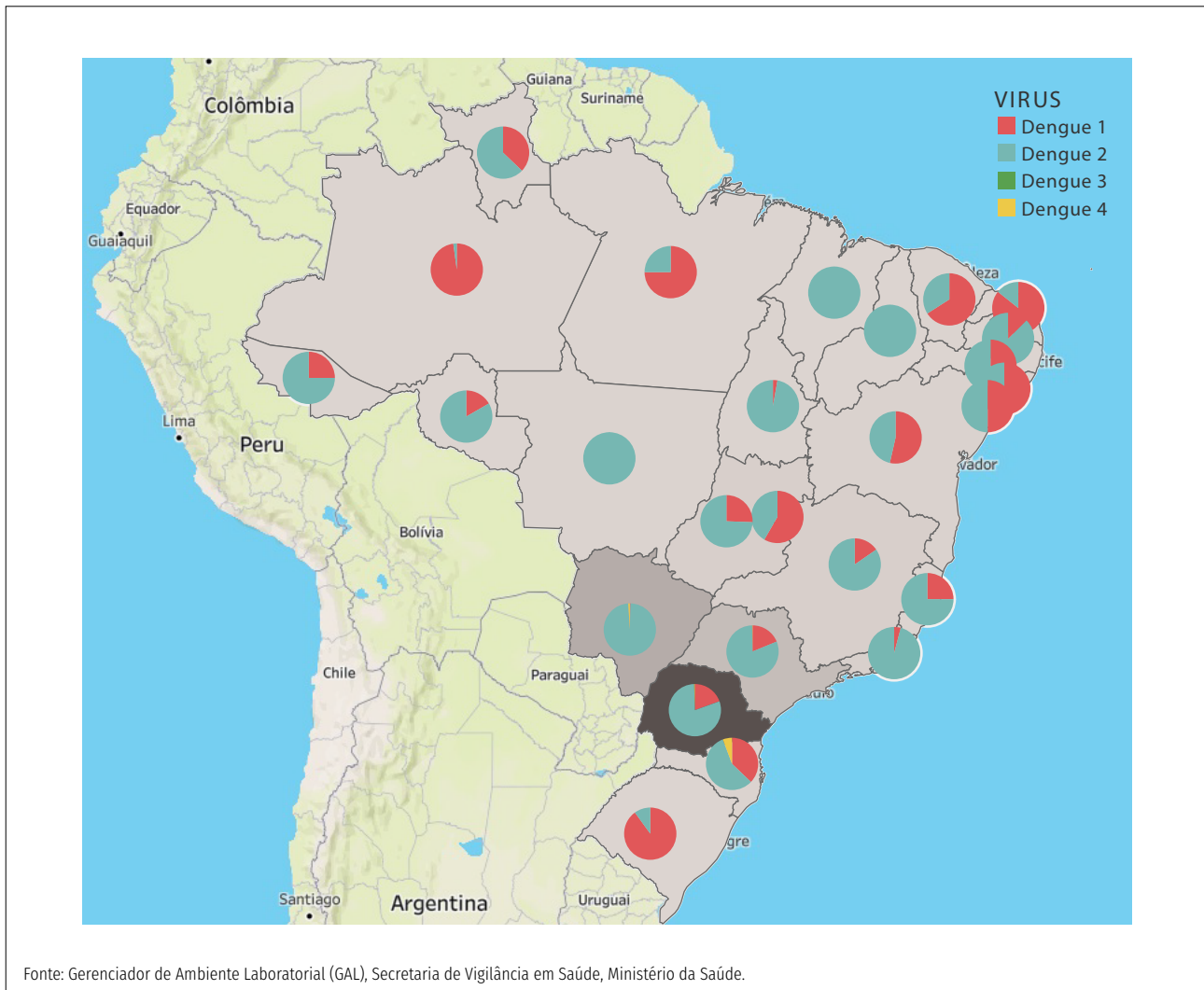


FIGURA 5 Distribuição da frequência absoluta do número de exames para sorotipos de DENV realizados e frequência relativa do tipo de sorotipo de DENV identificado, por UF de residência no Brasil, até a Semana Epidemiológica 53/2020

Observando a Figura 5, é possível verificar nos polígonos que o estado do Paraná foi aquele que concentrou o maior número de sorotipagem para DENV, seguido pelos estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo, respectivamente. Essa observação pode ser explicada por dois motivos: A Fiocruz-PR e o Lacen-PR são Laboratórios de Referência Regional para diagnóstico de DENV dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; e esforço conjunto da atenção primária, atenção especializada, vigilância epidemiológica e vigilância laboratorial em coletar amostras oportunas para os diagnósticos diretos (biologia molecular e isolamento viral), fase aguda da doença. As mesmas explicações para São Paulo, onde fica localizado o Instituto Adolfo Lutz (IAL/Lacen-SP), Laboratório de Referência Regional para diagnóstico da DENV de 5 estados (SP, MS, MA, PI e SE).

Mesmo considerando que apenas 10% do total de resultados positivos para DENV no período até a SE-53/2020 foram sorotipados, outra informação bastante importante observada na Figura 3 é a distribuição da frequência relativa dos sorotipos de DENV por estado, onde identifica-se o predomínio dos sorotipos DENV-2 e DENV-1. A circulação de DENV-3 e DENV-4 é baixa ou nula no Brasil. A reemergência e identificação do DENV-2 no fim de 2017 e sua posterior expansão nos anos seguintes, sinalizou uma grande preocupação para os serviços de saúde por conta de possíveis epidemias, uma vez que a última identificação ocorreu a aproximadamente 10 anos, levando grande parte da população a estar suscetível a esse sorotipo.

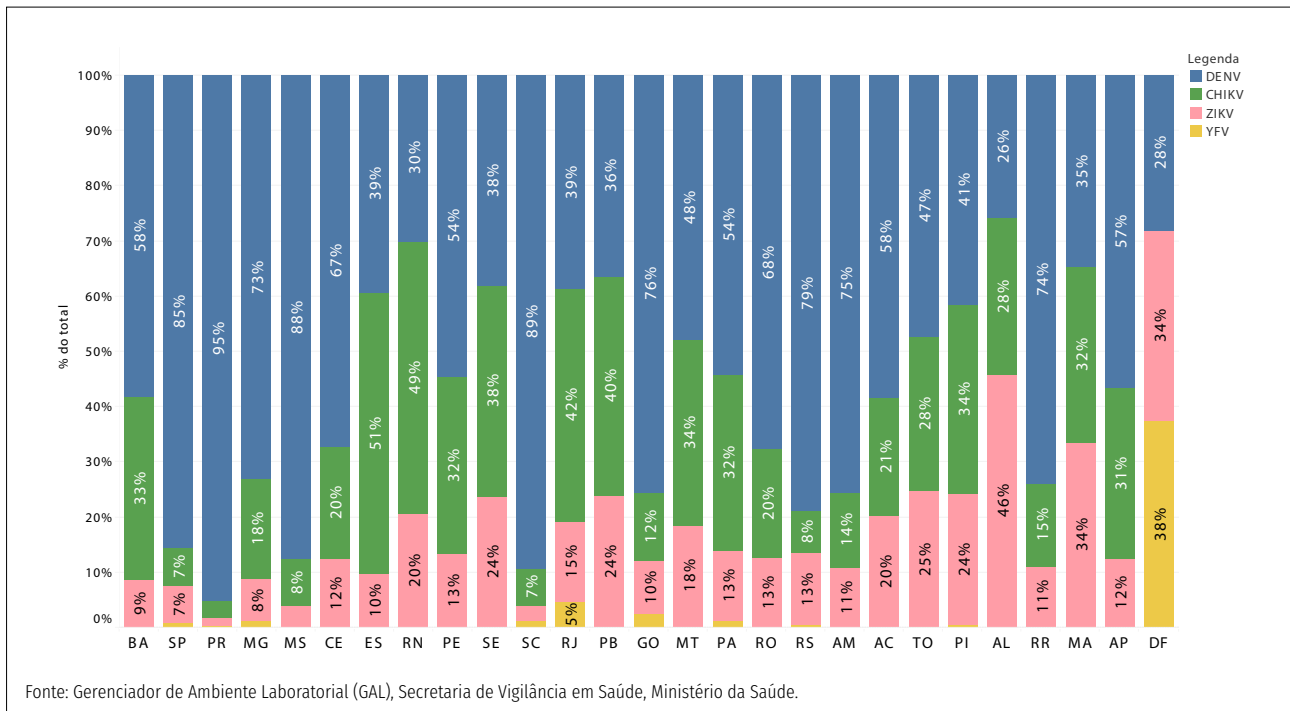


FIGURA 6 Distribuição da frequência relativa de exames solicitados, por agente etiológico e UF de residência no Brasil, até a SE-53/2020

Predominante e historicamente, a dengue é a doença que concentra o maior número de solicitações para realização de exames laboratoriais na maioria dos estados do Brasil, podendo ser observado na Figura 6. Contudo, eventualmente, alguns estados sob epidemias de outros arbovírus alteram essa distribuição: Alagoas (45% ZIKV), Distrito Federal (38% YFV), Rio Grande do Norte (49% CHIKV), Rio de Janeiro (42% CHIKV), Espírito Santos (51% CHIKV) e Paraíba (40% CHIKV). Esse comportamento pode ser explicado pelo fato da maior dispersão e gravidade do DENV quando comparado com os demais arbovírus, além de um conhecimento mais consolidado da doença.

Analisando os dados de solicitação de exames por UF de residência e métodos diagnósticos, é possível entender a dinâmica de abordagem e oportunidade

de coleta de amostras dos pacientes suspeitos de infecção por arbovírus. Desse modo, verifica-se que os métodos indiretos (sorologias) apresentam as maiores frequências relativas, exceto em Tocantins, onde a maior demanda por exames foi por biologia molecular.

Faz-se necessário intensificar o trabalho junto à atenção primária, rede especializada e vigilância em saúde para aumentar a oportunidade de coleta para os diagnósticos diretos (biologia molecular e isolamento viral), visando identificar o agente etiológico causador da doença, melhorar o percentual de exames de sorotipagem de DENV, reduzir custos, reduzir tempo de liberação dos resultados e fornecer amostras viáveis para realização de sequenciamento genético ou metagenômica.

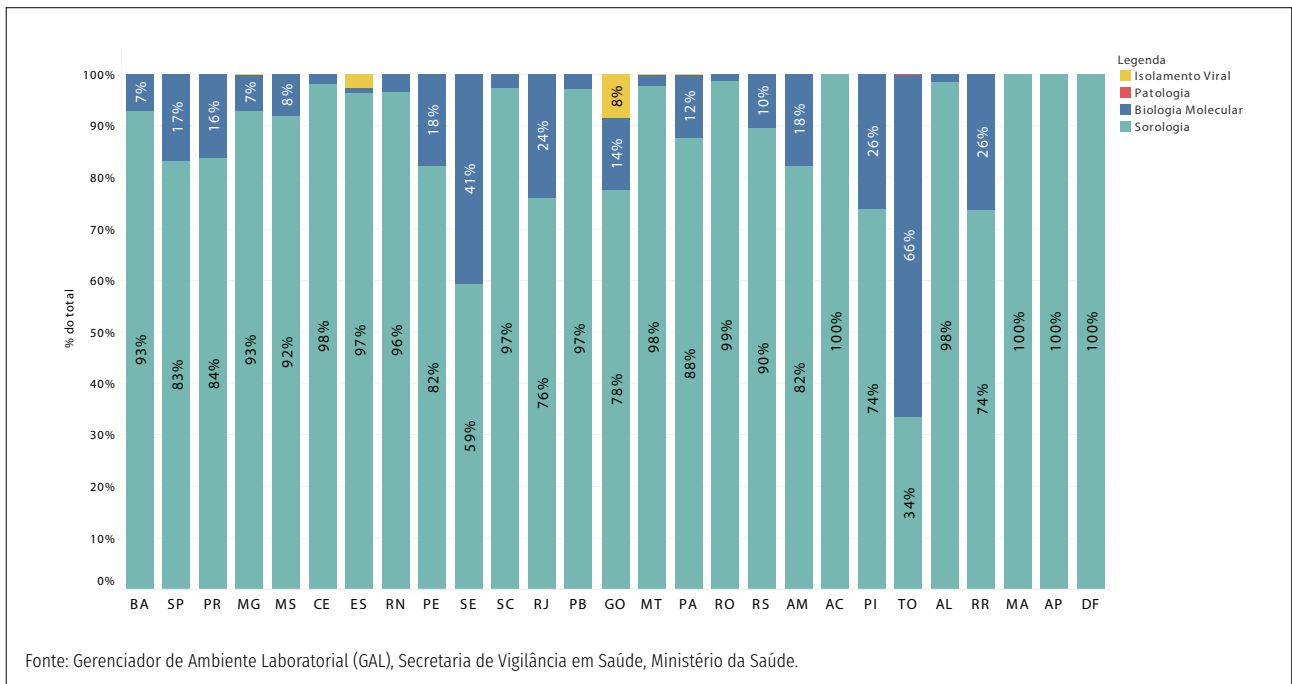


FIGURA 7 Distribuição da frequência relativa de exames solicitados, por método diagnóstico e UF de residência no Brasil, até a SE-49/2020

A qualidade e oportunidade de liberação dos resultados laboratoriais para diagnósticos das arboviroses também é impactado diretamente pelo momento da coleta dos espécimes clínicos (fase aguda ou fase convalescente). Os métodos indiretos (sorologias), das amostras coletadas em fase convalescente, costumam apresentar reatividade cruzada entre agentes etiológicos de mesmo gênero e, em algumas situações (infecções secundárias), com outros gêneros. Essa situação exige diagnósticos complementares mais específicos (Teste de

Neutralização por Redução de Placas – PRNT; Inibição da Hemaglutinação – IH) que tornam o processo do diagnóstico laboratorial mais dispendioso, demorado e, em algumas situações, inconclusivos. Os diagnósticos diretos (biologia molecular), realizados com amostras coletadas em fase aguda da doença, acabam sendo mais precisos e corrigem algumas das fragilidades dos métodos indiretos pela sua alta especificidade, agilidade e menor possibilidade de reações cruzadas inter e intra gêneros.



FIGURA 8 Distribuição da frequência relativa de exames solicitados, por oportunidade de liberação do resultado e UF do laboratório executor no Brasil, até a SE-53/2020

Considerando a Figura 7, que demonstra o predomínio dos exames laboratoriais indiretos para diagnóstico das arbovirose, e a Figura 8, percebe-se o comprometimento de uma liberação de resultado oportuno. Apenas os estados do Rio Grande do Sul (51,1%); Amazonas (71,8%) e Santa Catarina (79,8%) conseguiram percentuais acima de 50,0% de liberação oportuna dos seus exames (≤ 3 dias). Fazendo contraponto, os estados do Rio Grande do Norte (52%); Bahia (57%); Pará (62%) e Maranhão (77%) liberaram os resultados dos seus exames ≥ 11 dias. A maioria dos estados estão liberando seus resultados no período de 4 a 10 dias. Para uma doença aguda, que pode evoluir com grandes complicações e levar ao óbito rapidamente, são prazos que precisam ser melhorados.

Referências

- Walker PJ, Siddell SG, Lefkowitz EJ, Mushegian AR, Adriaenssens EM, Dempsey DM, Dutilh BE, Harrach B, Harrison RL, Hendrickson RC, Junglen S, Knowles NJ, Kropinski AM, Krupovic M, Kuhn JH, Nibert M, Orton RJ, Rubino L, Sabanadzovic S, Simmonds P, Smith DB, Varsani A, Zerbini FM, Davison AJ. Changes to virus taxonomy and the Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020). *Arch Virol.* 2020 Nov;165(11):2737-2748. PMID: 32816125.
- Cleton N, Koopmans M, Reimerink J, Godeke GJ, Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J Clin Virol.* 2012 Nov;55(3):191-203.
- Boletim Epidemiológico, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Volume 51, Nº 38, set. 2020, Disponível em: <https://bit.ly/31lcWRM>.
- Fonseca V, Libin PJK, Theys K, Faria NR, Nunes MRT, et al. A computational method for the identification of Dengue, Zika and Chikungunya virus species and genotypes. (2019) *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13(5): e0007231.
- Girard M, Nelson CB, Picot V, Gubler DJ. Arboviruses: A global public health threat. *Vaccine.* 2020;38(24):3989-3994. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.04.011.
- Burt, F.J., Grobbelaar, A.A., Leman, P.A., Anthony, F.S., Gibson, G.V.F. and R. Swanepoel (2002) Phylogenetic relationships of Southern African West Nile Virus isolates. *Emerg. Infect. Dis.* 8, 820-826.
- Boletim Epidemiológico, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Volume 48, Nº 28, 2017.

8. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, PORTARIA Nº 70, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2004, disponível em: <https://bit.ly/2LNgOMn>.
9. Faria N.R., et al. Genomic and epidemiological monitoring of yellow fever virus transmission potential. *Science*. 2018 Aug 31;361(6405):894-899. Doi: 10.1126/Science.Aat7115. Pub. 2018 Aug 23. PMID: 30139911; PMCID: PMC6874500.
10. Domingo, Cristina et al. Yellow fever in the diagnóstico laboratory. *Emerging microbes & infections* vol. 7,1 129. 12 jul. 2018, doi:10.1038/s41426-018-0128-8.
11. WHO. Laboratory diagnosis, n. 2, p. 34-47, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/2HzvJV>.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3a. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019.
13. Fonseca, Vagner de Souza Desenvolvimento de ferramentas de bioinformática para a genotipagem dos vírus dengue, zika, chikungunya e febre amarela/ Vagner de Souza Fonseca, 2016.

***Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde (CGLAB/DAEVS/SVS):** Breno Leite Soares, Eduardo Regis Melo Filizzola, Carla Freitas, Emerson Luiz Lima Araújo, Karina Cavalcante, Daniel Ferreira de Lima Neto, Layssa Miranda de Oliveira Portela, Leonardo Hermes Dutra, Patrícia de Oliveira Dias, Rodrigo Kato, Ronaldo de Jesus, Vagner Fonseca, .