

Boletim Epidemiológico Paulista

ISSN 1806-423-X
ISSN 1806-4272 – online

BEPA₉₁

Volume 8 Número 91 julho/2011

BEPA

Boletim Epidemiológico Paulista

ISSN 1806-423-X

Volume 8 Nº 91

julho de 2011

Nesta edição

Editorial	4
Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh e MGIT™ para isolamento de micobactérias <i>Performance evaluation of Ogawa-Kudoh and MGIT™ culture media for the isolation of mycobacteria</i>	5
Avaliação de kits comerciais para detecção de antígenos NS1-dengue – São Paulo <i>Evaluation of commercial kits for detecting the antigen NS1-dengue – São Paulo</i>	14
Consema aprova novos padrões de qualidade do ar para São Paulo Consema approves new quality patterns for the air in São Paulo	27
Resumo de dissertação <i>Summary of master's degree dissertation</i>	30
Fernando Fiuza de Melo: uma vida dedicada à pesquisa científica para o enfrentamento da tuberculose <i>Fernando Fiuza de Melo: a life dedicated to scientific research fighting tuberculosis</i>	32
Instruções aos Autores <i>Author's Instructions</i>	35

Expediente



COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS

Av. Dr Arnaldo, 351
1º andar – sala 131
CEP: 01246-000
Cerqueira César
São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3066-8823/8824/8825
E-mail: bepa@saude.sp.gov.br
<http://ccd.saude.sp.gov.br>

Os artigos publicados são de responsabilidade dos autores. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial. Para republicação de qualquer material, solicitar autorização dos editores.

Editor Geral

Clelia Maria Sarmiento Souza Aranda

Editor Executivo

Gerusa Figueiredo

Editores Associados

Alberto José da Silva Duarte – IAL/CCD/SES-SP
Alice Tiago de Souza – CCD/SES-SP
Affonso Viviane Junior – Suceen/SP
Ana Freitas Ribeiro – CVE/CCD/SES-SP
Fernando Fiuza – ICF/CCD/SES-SP
Lilian Nunes Schiavon – CTD/CCD/SES-SP
Marcos da Cunha Lopes Virmond – ILSL/CCD/SES-SP
Maria Clara Gianna – CRT/DST/Aids/CCD/SES-SP
Maria Cristina Megid – CVS/CCD/SES-SP
Neide Yume Takaoka – IP/CCD/SES-SP
Virgília Luna Castor de Lima – Suceen/SES-SP

Comitê Editorial

Adriana Bugno – IAL/CCD/SES-SP
Artur Kalichman – CRT/AIDS/CCD/SES-SP
Cristiano Corrêa de Azevedo Marques – IB/SES-SP
Dalma da Silveira – CVS/CCD/SES-SP
Gerusa Figueiredo – CCD/SES-SP
Maria Bernadete de Paula Eduardo – CVE/CCD/SES-SP
Maria de Fátima Costa Pires – PPG/CCD/SES-SP
Telma Regina Carvalhanas – CVE/CCD/SES-SP

Consultores Científicos

Albert Figueiras – Espanha
Alexandre Silva – CDC Atlanta
Eliseu Alves Waldman – FSP/USP-SP
Exedito José de Albuquerque Luna – IMT/USP
Carlos M. C. Branco Fortaleza – FM/Unesp/Botucatu- SP
Gonzalo Vecina Neto – FSP/USP
José Cássio de Moraes – FCM-SC/SP
José da Silva Guedes – IB/SES-SP
Gustavo Romero – UnB/CNPQ
Hiro Goto – IMT/SP
José da Rocha Carvalheiro – Fiocruz-RJ
Luiz Jacintho da Silva – FM/Unicamp
Maria Mercia Barradas – Abec
Myrna Sabino – IAL/CCD/SES-SP
Paulo Roberto Teixeira – OMS
Ricardo Ishak – CNPQ/UF Pará
Roberto Focaccia – IER/SES-SP
Vilma Pinheiro Gawyszewsk – OPAS

Coordenação Editorial

Cecília S. S. Abdalla
Cláudia Malinverni
Leticia Maria de Campos
Sylia Rehder

Centro de Produção e Divulgação Científica – CCD/SES-SP

Projeto gráfico/editoração eletrônica

Marcos Rosado – Centro de Produção e Divulgação Científica – CCD/SES-SP
Zilda M Souza – Nive/CVE/CCD/SES-SP

CTP, Impressão e Acabamento

Imprensa Oficial do Estado de São Paulo

Disponível em:

Portal de Revistas Saúde SP - http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_home&lng=pt&nrm=iso

Editorial

Em julho a Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo perdeu um dos seus mais brilhantes médicos. Nós, da Coordenadoria de Controle de Doenças, perdemos o Fernando, dirigente do Instituto Clemente Ferreira – órgão quase centenário e referência para a tuberculose, ao qual dedicava apaixonadamente horas e horas de trabalho. Aliás, paixão sempre foi marcante nas diferentes atividades que este caro amigo desenvolveu: pela redução das desigualdades sociais, pela luta contra a tuberculose, pela inserção da instituição nas atividades de pesquisa, pela linda e cativante terra natal, o Estado do Pará, pela grandiosa esposa Margarida, pelos paparicados filhos e neto, pelo Corinthians...

Durante os poucos anos em que convivemos pude observar a fala eloquente, às vezes com certo ar provocativo, com que defendia seus propósitos e projetos, o domínio da língua pátria e a riqueza do vocabulário utilizado, atributos daqueles a quem, acredito, devemos reverenciar como mestres.

Líder nato, exímio conhecedor da sua especialidade, exerceu fascínio sobre alunos, funcionários e colegas. A dignidade com que se despediu da vida foi a última lição, talvez uma das mais importantes, que pudemos receber do Fernando.

Nesta edição do Bepa dedicamos a ele, além deste editorial, uma nota biográfica que não teve a pretensão de expor seu brilhante currículo, mas contar um pouco da sua trajetória de vida e algumas de suas muitas histórias.

O leitor também pode resgatar o artigo de revisão “A experiência brasileira no controle da multidroga-resistência” (Bepa. 2010;7(75):16-23), do qual Fernando é o primeiro autor.

Até um dia, querido Fernando Augusto Fiuza de Mello.

Clelia Aranda
editora

Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh e MGIT™ para isolamento de micobactérias

Performance evaluation of Ogawa-Kudoh and MGIT™ culture media for the isolation of mycobacteria

Heloisa da Silveira Paro Pedro¹; Susilene Maria Tonelli Nardi¹; Máira Gazzola Arroyo¹; Maria Izabel Pereira Ferreira¹; Maria do Rosário Assad Goloni¹; Lucilaine Ferrazoli^{II}

¹Centro de Laboratórios Regionais. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São José do Rio Preto, SP, Brasil

^{II}Centro de Laboratórios. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

A cultura de micobactérias é de fundamental importância no diagnóstico da tuberculose, pois apresenta maior sensibilidade que a baciloscopia. Este estudo teve como objetivo verificar o desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh (OK) e *mycobacteria growth indicator tube* (MGIT™ – Becton & Dickinson) manual em relação à positividade, a rapidez do resultado, a contaminação e o acréscimo da cultura no diagnóstico em um laboratório de saúde pública no interior paulista. As amostras de pacientes com suspeita de tuberculose foram processadas duplamente para cultura: uma pelo método clássico do swab e semeadas em meio de OK e outra pelo método de Petroff e semeadas em meio líquido MGIT. Das 490 culturas realizadas, 45 (9,2%) foram positivas no meio OK e 58 (11,8%) no MGIT. O percentual de contaminação do meio OK foi 1,2% e 0,2% no MGIT. O acréscimo ao diagnóstico pela cultura no OK foi de 11 (17,7%) e no MGIT de 20 (28,2%). O crescimento em meio MGIT foi mais rápido que o OK nos resultados positivos (valor-p=0,02). A concordância/confiabilidade dos resultados foi de 95,2% (n=483). Dos 64 isolados obtidos pelo OK ou MGIT, a identificação foi realizada em 45 (70,3%): 37 (57,8%) foram identificados como *Mycobacterium tuberculosis*, 4 (6,3%) *M.intraellulare/M.chimaera*, 2 (3,1%) *M. abscessus* e 2 (3,1%) *M.avium*. O meio de MGIT apresentou melhores resultados em relação ao percentual de positividade, à rapidez no diagnóstico, à taxa de contaminação e ao acréscimo do diagnóstico da cultura, quando comparado com o meio OK.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycobacterium*. MGIT. Ogawa-Kudoh. Diagnóstico. Tuberculose. Técnicas. Procedimentos de laboratório.

ABSTRACT

Mycobacteria culture is of fundamental importance to the diagnosis of tuberculosis because presents sensitivity higher than the acid-fast smear. The purpose of this study is to evaluate the performance of the culture media Ogawa-Kudoh (OK) and manual Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT-Becton & Dickinson) in relation the positivity, speed of the results, contamination and the increase of the diagnosis by the culture in a public health laboratory in São Paulo state. The samples from patients with suspected tuberculosis were doubly processed for the culture: one by the conventional method of swab and inoculated onto OK medium, and another by the Petroff's method and inoculated in MGIT liquid medium. Of these 490 cultures performed, 45 (9.2%) were positive in the OK medium and 58 (11.8%) in MGIT. The percentage of the contamination in OK medium was 6 (1.2%) and 1 (0.2%) in MGIT. The increase of the diagnosis by the culture in OK was 11 (17.7%) and in MGIT was 20 (28.2%). The growth in MGIT medium was faster than OK in the positive results (value- $p=0.02$). The agreement/reliability of the results was 95.2% ($n=483$). Of these 64 isolates obtained by OK or MGIT, the identification was performed in 45 (70.3%): 37 (57.8%) were identified as *Mycobacterium tuberculosis*, 4 (6.3%) *M. intraellulare*/*M. chimaera*, 2 (3.1%) *M. abscessus* and 2 (3.1%) *M. avium*. The MGIT medium showed better results than OK medium in relation of the positivity, the rapidity of the diagnosis, rates of contamination and in the increase of the diagnosis by the culture.

KEY WORDS: *Mycobacterium*. Culture media. Diagnosis. Tuberculosis. Laboratory techniques procedures.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) representa um grande desafio em várias regiões do mundo. A taxa de incidência global da doença está aumentando cerca de 0,4% ao ano. Estima-se que 1/3 da população mundial esteja infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis* e aproximadamente 95% dos casos e 98% dos óbitos por TB ocorram em países em desenvolvimento.¹

A TB multirresistente e o aumento de doenças causadas por outras espécies de micobactérias (MNTs) impuseram a necessidade do desenvolvimento de novos métodos diagnósticos.² A pesquisa de bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) é o método para diagnóstico da doença mais utilizado no Brasil, por trata-se de procedimento rápido e barato. No entanto, apresenta

baixa sensibilidade. A cultura para micobactérias é considerada o método padrão ouro para o diagnóstico da TB, apresentando positividade nos espécimes que contenham de 10 a 100 bacilos viáveis.³ A cultura de escarro também apresenta a vantagem de recuperar micobactérias para a identificação e testes de sensibilidade.⁴ Quando realizada no escarro, em geral, pode acrescentar 20% de casos ao total daqueles de TB pulmonar não confirmados pela baciloscopia.⁵

O cultivo de micobactérias pelo método swab e semeados em meio de Ogawa-Kudoh (OK) é um procedimento simples, de baixo custo e, em termos de biossegurança, apresenta menor risco para os profissionais de laboratório, uma vez que não utiliza a centrifugação. Além disso, é suficientemente sensível para confirmar o diagnóstico da TB pulmonar, nos casos suspeitos com baciloscopia negativa, e útil para recuperar os bacilos de escarros de pacientes bacilíferos que requerem teste de sensibilidade às drogas.^{6,7,5}

Outro meio, o tubo indicador de crescimento de micobactérias (MGIT), sistema da Becton-Dickinson, foi introduzido há uma década para acelerar o isolamento de micobactérias. Esse meio é composto de meio líquido Middlebrook 7H9 e uma base de silicone impregnada de rutênio. Esse composto é sensível à presença do oxigênio no meio, tendo as emissões de fluorescência reduzidas, não podendo ser detectada. Assim que os microrganismos passam a consumir o oxigênio do meio a fluorescência passa a ser detectada, podendo ser visualizada utilizando-se uma luz UV de 365nm. Desse modo, o nível de fluorescência que o tubo emite corresponde à quantidade

de oxigênio consumido por organismos no tubo.⁸

O objetivo deste estudo foi verificar o desempenho dos meios de cultura OK e MGIT manual em relação à positividade, a rapidez do resultado, contaminação e acréscimo da cultura no diagnóstico em um laboratório de saúde pública no interior paulista.

METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto – órgão vinculado à Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP). Durante cinco meses, entre 2009 e 2010, as amostras de escarro que continham volume suficiente foram duplamente processadas pelo método do swab e semeadas em meio de OK e pelo método de Petroff e semeadas em meio líquido MGIT, de acordo com instrução do fabricante.⁵

As culturas em meio de OK foram descontaminadas, a partir um swab impregnado com amostra de escarro. O swab impregnado foi colocado em tubo estéril contendo 3 ml de solução de NaOH a 4%, por dois minutos, e depois semeado com movimentos rotatórios em meio OK. As culturas foram incubadas a 37°C por até 60 dias.⁵

Para cultura em meio líquido MGIT o escarro foi semeado após descontaminação pelo método de Petroff modificado. Um volume aproximado de 2 ml de escarro foi descontaminado com igual volume de solução de NaOH 4%, contendo solução indicadora de vermelho fenol (40 gramas de NaOH, 10 ml da solução de vermelho de

fenol, 1.000 ml de água destilada esterilizada); solução estéril de vermelho fenol (0,1g de vermelho fenol, 25ml de água destilada). Os tubos contendo as amostras foram colocados durante 15 minutos em estufa bacteriológica 36°C+/-1°C e depois centrifugados por 15 minutos a 3.000g. Ao sedimentou acrescentou-se HCl 1% até viragem para a cor amarela. Em seguida, adicionou-se a solução neutralizante estéril (4 gramas de NaOH, 0,004g de vermelho fenol, 0,4g de sulfato de alumínio e potássio, água destilada 1.000ml) até a viragem para cor rosa. Uma alíquota de 0,5ml foi semeada em meio MGIT. Os tubos foram então colocados em estufa bacteriológica 36°C+/-1°C.

A leitura das culturas foi realizada semanalmente no meio OK e diariamente no meio MGIT, e o resultado negativo emitido em 60 e 42 dias, respectivamente. Registrou-se o tempo de obtenção dos resultados positivos e a presença de contaminação.

As culturas positivas foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico (morfologia e coloração das colônias) e microscópicos, após coloração pelo método de Ziehl-Neelsen. As culturas sugestivas de *M.tuberculosis* e MNTs⁵ foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz Central – São Paulo para investigação do perfil da sensibilidade às drogas e identificação da espécie. O teste de sensibilidade às drogas foi feito pelo método automatizado

Bactec MGIT960 (Becton & Dickinson-BD), conforme instrução do fabricante, para as quatro drogas: isoniazida, rifampicina, estreptomicina e etambutol. O teste da pirazinamida foi realizado pelo método da pirazinamidase.⁹ A identificação da espécie foi realizada pelo método de PRA-*hsp65*.¹⁰ Os resultados foram inseridos em planilha Excel e analisados pelo programa EPI INFO versão 3.5.1. e BioStat 5.0.

Para comparar variáveis dependentes (positividade, contaminação e rapidez dos testes) utilizou-se o teste do qui-quadrado e Mann-Whitney, conforme apropriado. Adotou-se como valor significativo valor-p <0,05 e poder de 80%. A análise de concordância entre métodos foi realizada pelo teste de Kappa, de acordo com proposto por Landis & Koch.¹¹ O acréscimo da cultura foi realizado de acordo com *Manual de Tuberculose e outras Micobacterioses 2008*.⁵

RESULTADOS

No período estudado, foram realizadas 490 culturas e comparado o desempenho dos dois métodos de cultura em relação à positividade, ao tempo de detecção e à contaminação. O método de MGIT manual apresentou melhor desempenho (percentual e média) em termos de positividade, rapidez e taxas de contaminação (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação entre os meios MGIT e Ogawa-Kudoh em relação à positividade, contaminação e rapidez do resultado.

	MGIT (n=490)	Ogawa-Kudoh (n=490)	p
Resultados positivos*	58 (11,8%)	45 (9,2%)	0,028*
Contaminação	1 (0,2%)	6 (1,2%)	
Rapidez do resultado (mediana em dias)	11 (min 2 – max 42) IC=(10,8-16,5)	21 (min 7 – max 46) IC=(19,4-27,1)	0,53**

*teste qui-quadrado

**Mann-Whitney

IC = intervalo de confiança 95%

A concordância/confiabilidade dos resultados foi de 95,2% (n=483) e o acréscimo ao diagnóstico pela cultura no OK foi de 17,7% (n=11) e no MGIT de 28,2% (n=20). Do total de culturas realizadas, 64 foram positivas ao menos em um dos dois métodos (OK ou MGIT). A identificação foi possível de ser realizada em 45 (70,3%) isolados e em 19 isolados foi confirmado somente o gênero (*Mycobacterium* spp.). Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

O teste de sensibilidade foi realizado em todos os isolados de *M.tuberculosis*, e todos foram sensíveis para as drogas: estreptomicina, rifampicina, isoniazida, etambutol e pirazinamida.

DISCUSSÃO

A cultura para o *M.tuberculosis* é considerada o método padrão ouro para o diagnóstico da tuberculose e permite a recuperação da micobactéria para a identificação e teste de sensibilidade.⁴ A associação da cultura à baciloscopia permite maior cobertura no diagnóstico laboratorial da TB, além de possibilitar o isolamento do bacilo para a identificação das espécies e o estudo do perfil de susceptibilidade às drogas, visando adotar medidas de controle da doença.^{12,3} De acordo com KUDOH, a cultura por esse método aumenta o rendimento

diagnóstico em 20-40%.¹³ Em nosso estudo, a cultura em meio de OK acrescentou 17,7% ao diagnóstico, percentual um pouco abaixo do indicado pelo autor. Por outro lado, o meio de MGIT, proporcionou um acréscimo maior ao diagnóstico (28,2%).

A comparação entre as culturas semeadas nos meios de OK e MGIT revelou que, além da positividade das culturas ser maior no meio líquido MGIT (11,8%), o tempo de detecção foi bem menor (média 11 dias), proporcionando um diagnóstico mais rápido. Essa redução se deve principalmente ao fato de que o meio líquido é mais rico em nutrientes, proporcionando melhores condições de multiplicação para micobactérias.¹⁴

Dados semelhantes foram encontrados por outros autores,^{15,2,14} que constataram menor tempo de detecção, com uma média que variou de 10,5 a 12 dias. OPLUSTIL e colaboradores demonstraram que a maioria dos resultados das culturas positivas do meio MGIT foi detectada na segunda semana 78 (54,2%), seguida da primeira semana 53 (36,8%).¹⁶ O presente estudo também encontrou maior número de culturas positivas na segunda semana 14 (34,14%), enquanto na primeira semana esse percentual foi de 12 (29,26%), dados não mostrados.

Tabela 2. Espécies identificadas das culturas positivas pelos métodos MGIT e Ogawa-Kudoh.

Espécies identificadas N=45	MGIT e OK (n=27)	Somente MGIT (n=14)	Somente Ogawa-Kudoh (n=4)
	n (%)	n (%)	n (%)
<i>M. tuberculosis</i> (n=37)	24 (64,8)	11*(29,7)	2 (5,4)
<i>M. avium</i> (n=2)	0 (0)	2 (100)	0 (0)
<i>M. intraellulare/M. chimaerae</i> (n=4)	3 (75)	0	1 (25)
<i>M. abscessus</i> (n=2)	0	1 (50)	1 (50)

Kappa=0,63; valor-p<0,01

*2 culturas contaminaram no OK

Não foram encontrados estudos comparando o método MGIT com OK. Por outro lado, muitos trabalhos compararam a cultura em meio MGIT com cultura em meio de Lowenstein Jensen (LJ). DELURCE constatou que a cultura em meio líquido apresentou maior positividade (23%) quando comparado com meio LJ (19,2%).¹⁷ De acordo com FADZILAH, 101 (19,8%) culturas foram positivas no MGIT, enquanto 60 (11,7%) pelo LJ.⁸ MACHADO encontrou maior positividade no MGIT (15,6%) quando comparado com o meio LJ (14,1%), e a média do tempo de detecção do MGIT foi 11,43 dias e do LJ foi de 20,29 dias.¹⁵ No estudo de OPLUSTIL, das 149 amostras com pesquisa positiva, 144 amostras foram positivas no MGIT e 131 no LJ, sendo que no meio MGIT a maioria das culturas foi positiva nas duas primeiras semanas e no LJ, após 15 dias.¹⁶ PALACI e colaboradores também verificaram que as culturas positivas no MGIT foram detectadas uma semana antes das culturas positivas no LJ.¹⁸

Neste estudo foi observado melhor rendimento de culturas positivas pelo método MGIT manual. No entanto, em 4 (6,0%) amostras houve crescimento somente em meio de Ogawa Kudoh. CHIEN, em estudo comparativo entre os meios MGIT e LJ, também encontrou em 5,6% dos casos, isolamento somente no meio de LJ.¹⁹ Alguns fatores podem influenciar o resultado da cultura, como o número de organismos presentes e os métodos de colheita da amostra, tratamentos anteriores e método de processamento. Além disso, as soluções utilizadas para a digestão/descontaminação da amostra podem causar dano às micobactérias. Com a necessidade de obter diagnóstico mais rápido e isolados para teste de

sensibilidade às drogas e dados epidemiológicos, os meios líquidos são recomendados para atender à demanda e urgência dos resultados laboratoriais.^{20,14} Por essa razão, em condições ideais deve-se semear a amostra tanto em meio líquido como em meio sólido à base de ovos.

A porcentagem de concordância/confiabilidade e sensibilidade entre os meios foi alta, 95,2% e 89%, respectivamente. No entanto, a taxa de contaminação foi maior no meio Ogawa (1,2%) do que no MGIT (0,2%). Nossos resultados diferem dos encontrados na literatura²¹ e ainda é menor que os estudos realizados pelo fabricante (9,7%).

Todos os isolados de *M.tuberculosis* foram analisados quanto ao perfil de sensibilidade às drogas e todas foram sensíveis para os antibióticos: estreptomina, rifampicina, isoniazida, etambutol e pirazinamida.

As espécies de micobactérias não tuberculosas (MNT) isoladas no período foram *M.intraellulare/M.chimaera* (6,3%), *M.abcessus* (3,1%) e *M. avium* (3,1%). Essa frequência está de acordo com estudos anteriores realizados nessa mesma região.^{22,23} Vale destacar que a espécie *M.avium* cresceu somente no meio MGIT, e um isolado de *M.abcessus* somente no meio de Ogawa-Kudoh.

Por fim, ressalta-se a importância de estudos sobre comparação e o conhecimento do perfil da TB e micobacterioses em nossa área de abrangência e da eficácia e rapidez na detecção de micobactérias, pois possibilitarão a divulgação e comparação dos resultados com outras regiões do País e, principalmente, o diagnóstico precoce da tuberculose e micobacterioses.

CONCLUSÃO

O meio de cultura MGIT apresentou melhores resultados em relação ao percentual de positividade, rapidez no diagnóstico, taxa de contaminação e acréscimo do diagnóstico da cultura, quando comparado ao meio OK. Dessa forma, o meio MGIT melhorou o diag-

nóstico das infecções por micobactérias, em razão do meio líquido ser mais sensível que o meio sólido.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à bibliotecária Rosângela Maria Moreira Kavanami pela correção das referências.

REFERÊNCIAS

1. Brito RC, Gounder C, Lima DB, Siqueira H, Cavalcanti HR, Pereira MM, et al. Resistência aos medicamentos anti-tuberculose de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes atendidos em hospital geral de referência para tratamento de AIDS no Rio de Janeiro. J Bras Pneumol. 2004;30(4):425-32.
2. Oplustil CP, Teixeira SR, Osugui SK, Mendes CF. Impacto da automação no diagnóstico de infecções por micobactérias. J Bras Patol Med Lab. 2002;38(3):167-73.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de bacteriologia da tuberculose. Centro de Referência Professor Hélio Fraga. Rio de Janeiro; 1994.
4. Brodie D, Schluger NW. The diagnosis of tuberculosis. Clin Chest Med. 2005;26(2):247-71.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobacterioses [monografia na internet]. Brasília, 2008 [acesso em 2011 fev 9]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_laboratorio_tb_3_9_10.pdf.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil [monografia na internet]. Brasília, 2010 [acesso em 2010 nov 9]. Disponível em: http://www.crf-rj.org.br/crf/arquivos/Manual_Recomendacoes_Controlo_TB.pdf.
7. Ribeiro FH, Dantas MCS, Maia R, Lecco R, Luchi BMM, Bussular JL, et al. Comparação do método de Ogawa Kudoh com os métodos de Lauril sulfato de sódio e fosfato trissódico para cultivo de micobactérias [periódico na internet]. [acesso em 2010 set 24]. Disponível em: http://www.jornaldepneumologia.com.br/portugues/suplementos_detalhe.asp?id_cap=64.

8. Fadzilah MN, Kee Peng NG, Yun Fong N. The manual MGIT system for the detection of *M.tuberculosis* in respiratory specimens: an experience in the University Malaya Medical Centre. *J Pathol.* 2009;31(2):93-7.
9. Collins CH, Grange JM, Yates MD. Identification of species. In: *Tuberculosis bacteriology: organization and practice.* 2. ed. Butterworth- Heinemann, Oxford, 1997.
10. Chimara E, Ferrazoli L, Ueki SYM, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, et al. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-*hsp65* in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-*hsp65* patterns. *BMC Microbiol.* 2008;8:48.
11. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33:159-74.
12. Boffo MMS, Mattos IG, Ribeiro MO, Jardim S, Souza VC. Diagnóstico laboratorial da tuberculose na cidade do Rio Grande, RS, Brasil. *Rev Bras Anal Clin.* 2003;35(1):35-8.
13. Kudoh S, Kudoh T. A simple technique for culturing tubercle bacilli. *Bull World Health Organ.* 1974;51(1):71-82.
14. Almeida EA, Santos MAA, Afiune JB, Spada DTA, Melo FAF. Rendimento da cultura de escarro na comparação de um sistema de diagnóstico automatizado com o meio de Lowenstein-Jensen para o diagnóstico da tuberculose pulmonar. *J Bras Pneumol.* 2005;31(3):231-6.
15. Machado AMO. Avaliação do meio de cultura líquido BBL mycobacteria growth indicator tube (MGIT) em rotina de detecção de micobactérias em amostras de escarro de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar [tese de doutorado]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina; 1998.
16. Oplustil CP, Sinto SI, Martins M, Mendes CMF. Avaliação de um novo sistema para detecção de micobactérias: "mycobacterium growth indicator tube" (MIGIT). *J Bras Patol.* 1997;33(2):70-5.
17. Delurce TAE. Detecção de bactérias do complexo *M.tuberculosis* em saliva/muco ou escarro em centro de referência ambulatorial para tuberculose na cidade de São Paulo: baciloscopia, cultura convencional e automatizada [tese de doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.
18. Palaci M, Ueki SYM, Sato DN, Telles MAS, Curcio M, Silva EAM. Evaluation of mycobacteria growth indicator tube for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 1996;34(3):762-4.
19. Chien HP, Yu MC, Wu MH, Lin TP, Luh KT. Comparison of the Bactec MGIT 960 with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Int j tuberc lung dis.* 2000;4(9):866-70.
20. Kritski ALL, Rufino-Neto A. Health sector reform in Brazil: impact on tuberculosis control. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000;4(7):622-6.
21. López LM, Vélez CI, Zuluaga LM, Mejía GI, Estrada S, Posada P, et al. Evaluación de medios de cultivo alternativos para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar. *Infectio.* 2001;5(4):235-40.

22. Pedro HSP, Pereira MIF, Goloni MRA, Ueki SYM, Chimara E. Isolamento de micobactérias não-tuberculosas em São José do Rio Preto entre 1996 e 2005. J Bras Pneumol. 2008;34(11):950-5.
23. Pedro HSP, Pereira MIF, Goloni MRA, Pires FC, Oliveira RS, Rocha MAB, et al.

Mycobacterium tuberculosis in a HIV-I-infected population from Southeastern Brazil in the HAART era. Trop Med Int Health. 2011;16(1):67-73.

Recebido em: 01/03/2011
Aprovado em: 30/06/2011

Correspondência/correspondence to:

Heloisa da Silveira Paro Pedro
Rua Alberto Sufredini Bertoni, nº 2.325 – Maceno
CEP: 15060-020 – São José do Rio Preto/SP – Brasil
Fone: 55 17 3224-2602, ramal 29
E-mail: hspedro@ial.sp.gov.br

Artigo original

Avaliação de kits comerciais para detecção de antígenos NS1-dengue – São Paulo

Evaluation of commercial kits for detecting the antigen NS1-dengue – São Paulo

Fernanda Gisele da Silva¹; Sarai Joaquim dos Santos Silva¹; Iray Maria Rocco¹; Vivian Regina Silveira¹; Akemi Suzuki¹; Gizelda Katz²; Ivani Bisordi¹

¹Núcleo de Doenças de Transmissão Vetorial. Centro de Virologia. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

²Centro de Respostas Rápidas. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

O vírus dengue, pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, é constituído de RNA de fita simples que codifica proteínas estruturais e não estruturais. Possui quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. O diagnóstico laboratorial rápido pode ser de grande ajuda no controle da expansão da doença. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes kits de detecção da proteína NS1 do vírus dengue, tendo como referência o isolamento viral. Foram utilizadas 147 amostras de soro de pacientes com suspeita de infecção pelo DENV, das quais 64 foram recebidas para isolamento de vírus e 83 para ELISA IgM. O kit Dengue NS1 Ag Strip (Bio-Rad) obteve sensibilidade de 89%, especificidade de 66%, VPP 67% e VPN 88%. O Dengue Duo Test (Bioeasy) teve sensibilidade de 89%, especificidade 68%, VPP 70% e VPN 88%. O Platelia Dengue NS1 ELISA Ag (Bio-Rad) apresentou sensibilidade de 95%, especificidade 47%, VPP 59% e VPN 92%. O kit Dengue Early ELISA (Panbio) resultou em sensibilidade de 86%, especificidade 71%, VPP 69% e VPN 86%. De forma geral, os kits avaliados podem ser empregados no diagnóstico, sempre associados a critério clínico e epidemiológico ou outros métodos laboratoriais.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue. Diagnóstico. Isolamento viral. Captura de NS1.

ABSTRACT

The dengue virus, which belongs to the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, consists of single-stranded RNA encoding structural and non-structural proteins. It has four serotypes: DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4. The rapid laboratory diagnosis may greatly help to control the spread of the disease. The objective of the present work was to evaluate diagnostic kits for dengue, by detecting the NS1 protein, using virus isolation as reference. We used 147 sera samples of patients suspected of DENV infection, 64 were tested for virus isolation and 83 by capture ELISA IgM. Dengue NS1 Ag Strip (Bio-Rad) achieved a sensitivity of 89%, specificity of 66%, PPV of 67% and NPV of 88%. Dengue Duo Test (Cassette) showed a sensitivity of 89%, specificity of 68%, PPV of 70% and NPV of 88%. The Platelia Dengue NS1 ELISA Ag (Bio-Rad) had a sensitivity of 95%, specificity of 47%, PPV of 59% and NPV of 92%. Dengue Early ELISA kit (PANBIO) resulted in a sensitivity of 86%, specificity of 71%, PPV of 69% and NPV of 86%. In general, the evaluated kits can be used in diagnosis, associated with other criteria such as clinical-epidemiological or other laboratorial methods.

KEY WORDS: Dengue. Diagnosis. Virus isolation. Capture of NS1.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença infecciosa, febril e aguda, e pode se apresentar como infecção inaparente, dengue clássico (DC), febre hemorrágica da dengue (FHD), síndrome do choque da dengue (SCD) e dengue com complicação (DCC).¹ Após realização de estudo internacional, em 2009, a Organização Mundial de Saúde (OMS) sugeriu uma nova classificação da doença para facilitar a triagem dos pacientes e os cuidados com a evolução do quadro clínico. A nova classificação é simples e consta de apenas duas definições: dengue (com e sem sinais de alerta) e dengue grave, para casos com extravasamento de plasma, hemorragia severa e comprometimento de órgãos.²

O vírus dengue (DENV) é um Arbovírus pertencente à família *Flaviviridae*, gênero

Flavivirus e é transmitido ao homem por mosquitos do gênero *Aedes*. São quatro sorotipos denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Os quatro sorotipos formam um subgrupo no gênero *Flavivirus*.³ O DENV é esférico, envelopado, com projeções na superfície e tem aproximadamente 60 nm de diâmetro. Possui uma fita única de RNA com peso molecular (PM) de 4×10^6 , contendo aproximadamente 11.000 nucleotídeos e, por ser polaridade positiva, comporta-se como RNA mensageiro.

O genoma é organizado em uma única fase aberta de leitura (ORF) que codifica três proteínas estruturais: proteína C, localizada no nucleocápside ou proteína do núcleo; proteína M, que se encontra associada com a membrana; e a proteína E

do envelope, principal proteína estrutural, diretamente associada com a imunidade e provável virulência da amostra. Entre as proteínas virais, a proteína do envelope é uma das mais antigênicas. Anticorpos para proteína E inibem a ligação do vírus à célula e neutralizam o vírus. Esses anticorpos apresentam graus variáveis de reação cruzada entre os sorotipos dos DENV.

O DENV tem sete outras proteínas não estruturais (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5) que estão relacionadas com a infecção viral.⁴ As proteínas não estruturais são importantes na replicação, na transmissão pelo vetor, na virulência e outras funções no hospedeiro. Um importante alvo dos anticorpos para DENV é a proteína NS1, uma glicoproteína conservada que parece ser essencial para a viabilidade do vírus. Essa proteína é expressa na superfície das células infectadas e se encontra na circulação como uma substância solúvel.

O diagnóstico da dengue é difícil quando baseado exclusivamente em aspectos clínicos, uma vez que os sintomas podem ser confundidos com outras doenças. O diagnóstico específico se dá através do isolamento viral, detecção do antígeno, detecção do ácido nucleico viral e pesquisa de anticorpos.⁵ No entanto, buscam-se alternativas para o diagnóstico visando à minimização do tempo e custos.

O diagnóstico virológico da dengue deve ser feito na fase aguda da infecção, embora a reação em cadeia de polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) possa ser usada no início da fase de convalescença, com menor sensibilidade. O isolamento viral é feito por inoculação de amostras de soro em culturas celulares de mosquito *Aedes albopictus* (clone C6/36), seguido de imunofluorescência indireta (IFI).

Os ensaios sorológicos baseiam-se na pesquisa de anticorpos específicos contra o vírus. Podem ser utilizadas técnicas de neutralização e inibição da hemaglutinação, com amostras pareadas dos pacientes, para observação de conversão sorológica (aumento de quatro vezes ou mais dos títulos de anticorpos), entre a fase aguda da infecção e a fase convalescente. Os métodos sorológicos mais utilizados são os imunoenzimáticos ELISA de captura de anticorpos IgM, que permitem discriminar IgM na fase aguda da doença, facilitando o diagnóstico por necessitar apenas de uma amostra de soro, coletada a partir do sexto dia após início dos sintomas.

Como os sintomas iniciais da infecção pelos vírus dengue são inespecíficos, o diagnóstico diferencial é feito para diversos agravos: influenza, enterovirose, doenças exantemáticas (sarampo, rubéola, parvovirose e mononucleose infecciosa), hepatites virais, hantavirose, febre amarela, mayaro, malária, riquetsioses, alergias cutâneas e outras infecções que possam ser epidêmicas na região de ocorrência do caso.¹

Ensaio imunoenzimático e imunocromatográfico para a detecção da proteína viral NS1 estão disponíveis no mercado.⁶ Como o antígeno NS1 está presente no soro de indivíduos infectados desde o primeiro dia de doença, permanecendo na forma solúvel até o quinto ou sexto dia, seu uso vem sendo estudado como ferramenta de detecção precoce da dengue.⁷

O objetivo deste relato foi avaliar quatro kits para detecção de proteínas NS1 em dois formatos (imunoenzimático – ELISA e imunocromatográfico – Strip), comercialmente disponíveis, tendo como referência a técnica de isolamento de vírus em cultura de células.

METODOLOGIA

Para avaliar os diferentes *kits* de detecção de NS1 foi constituído um painel de amostras recebidas pelo Núcleo de Doenças de Transmissão Vetorial do Instituto Adolfo Lutz (NDTV/IAL) – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) – para diagnóstico laboratorial da dengue, no período de 2007 a 2008, provenientes da rede de saúde paulista.

Foram selecionadas 147 amostras, sendo 64 recebidas para isolamento de vírus (coletadas em fase aguda de infecção, de 0 a 3 dias de doença) e 83 para ELISA de captura de anticorpos IgM, técnica *in house* (coletadas em fase aguda-tardia, a partir do quinto dia após início de infecção).

Todas as amostras foram processadas para tentativa de isolamento de vírus. Aquelas que apresentaram resultado positivo foram assim distribuídas: 21 positivas para DENV-1, 10 para DENV-2 e 33 para DENV-3. Dentre as 83 amostras analisadas por ELISA IgM, 62 foram reagentes, 6 não reagentes e 15 resultaram leitura de densidade óptica próxima ao *cut-off* (CO) e, portanto, consideradas inconclusivas. Foram selecionadas mais 30 amostras de pacientes com outras patologias sendo: 2 amostras de pacientes com sarampo, 3 amostras de rubéola, 12 amostras de herpes e 13 de varicela zoster, todas confirmadas por técnicas sorológicas.

As amostras foram estudadas na sua totalidade e agrupadas, para avaliação, de acordo com os dias de doença. O dia zero foi considerado o de início da febre. Foram avaliados sensibilidade (S),

especificidade (E), valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) para o total de amostras e para as amostras agrupadas de acordo com os dias de doença.⁸

Os cálculos foram realizados de acordo com as seguintes fórmulas:

S = capacidade de reconhecer os verdadeiros positivos ($a/a+c$), em que (a) representa o número de verdadeiros positivos e (c) o número de falsos negativos

E = instrumento de distinguir os verdadeiros negativos ($d/b+d$), em que (d) representa o número de verdadeiros negativos e (b) o número de falsos positivos

VPP = probabilidade de que cada positivo pelo teste, seja um caso ou verdadeiro positivo ($a/a+b$), em que (a) representa o número de verdadeiros positivos e (b) o número de falsos positivos

VPN = probabilidade de que cada negativo seja um sadio ($d/c+d$), em que (d) representa o número de verdadeiros negativos e (c) o número de falsos negativos

O cálculo do intervalo de confiança (IC 95%)⁹ para os valores de sensibilidade dos *kits* foi realizado com amostras coletadas de 0 a 3 dias após início de sintomas. Todas as amostras foram testadas pelos *kits* Dengue NS1 Ag Strip kit (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França), Dengue Duo Test (Bioeasy Diagnóstica), Dengue Early Elisa (Panbio Europa) e Platelia™ Dengue NS1 Ag Kit (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França). Todos os ensaios foram realizados em conformidade

com as instruções dos fabricantes, contidas nas bulas dos *kits*. As reações foram realizadas ao mesmo tempo e as leituras dos testes confirmadas por mais de um observador. Testes de inibição da hema-glutinação foram realizados com o intuito de elucidar eventuais resultados inconclusivos obtidos pelos *kits* comerciais.

Os resultados obtidos por isolamento viral foram utilizados como referência para análise dos resultados.

Isolamento de vírus

O isolamento de vírus foi realizado por inoculação em cultura de células de *Aedes albopictus* (C6/36), seguida por IFI com anticorpos policlonais; *pool* de fluido ascítico de camundongo antiDENV e imunoglobulina anticamundongo conjugada com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA-ALDRICH). As amostras positivas no primeiro teste foram processadas por IFI com anticorpos monoclonais (Bio-manguinhos) para os quatro sorotipos de DENV.¹⁰

Testes imunocromatográficos

Dengue NS1 Ag Strip (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França): as tiras para imunocromatografia foram colocadas na posição vertical dentro de tubos de ensaio já contendo 50 µl da amostra a ser testada e uma gota do tampão de migração. A amostra do paciente migra ao longo da tira e os resultados são lidos ao fim de 15 minutos. Quando presente na amostra, o antígeno NS1 se liga aos anticorpos para NS1 fixados nas partículas de ouro coloidal do conjugado. Após a migração, os complexos são capturados pelos anticorpos para NS1 fixados

na linha teste, formando uma linha violeta quando a reação é positiva e sem coloração, quando a reação é negativa. Se não houver cor na linha controle o teste deve ser considerado inválido.

Dengue Duo Test (Bioeasy Diagnóstica Ltda): teste imunocromatográfico para detecção qualitativa do antígeno NS1 do DENV em amostras de soro, plasma e sangue humano. O teste contém uma membrana ou fita marcada com anticorpo para NS1 e um anticorpo para antígeno NS1 para DENV, conjugado ao ouro coloidal. A amostra desliza ao longo da membrana cromatográfica até a região teste que origina uma linha visível, quando se forma um complexo anticorpo/antígeno/anticorpo. Caso não haja coloração na altura esperada na linha teste a reação será considerada negativa. Se não houver cor na linha controle o teste deve ser considerado inválido.

Os critérios para validação das reações imunocromatográficas foram os indicados pelos fabricantes. As amostras foram classificadas como reagentes, não reagentes e inconclusivas. As amostras consideradas inconclusivas foram as que apresentaram leitura de coloração tênue.

Testes imunoenzimáticos ELISA para captura de NS1

Dengue Early ELISA (Panbio Europa): ensaio no formato ELISA para captura do antígeno NS1 do DENV no soro dos pacientes. Os orifícios da microplaca do teste estão sensibilizados com anticorpos para NS1. O *kit* contém anticorpo monoclonal para NS1 conjugado a enzima peroxidase, substrato TMB, solução tampão para lavagem, 5 controles (1 positivo, 1 negativo e 3 calibradores para valor de CO) e

solução para interrupção da reação (solução de bloqueio).

Platelia™ Dengue NS1 Ag kit (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França): ensaio imunoenzimático de captura da proteína NS1 para determinação qualitativa ou semiquantitativa em soro ou plasma humano. Os orifícios da microplaca estão sensibilizados com anticorpo para NS1. O *kit* contém diluente para amostras, anticorpo para NS1 marcado com a enzima peroxidase, substrato TMB, solução de bloqueio, 5 controles (1 positivo, 1 negativo e 3 calibradores para CO) e solução tampão de lavagem.

A validação das reações imunoenzimáticas e o valor de CO foram obtidos de acordo com os critérios e instruções dos fabricantes. As amostras foram classificadas como reagentes, não reagentes e inconclusivas. As consideradas inconclusivas foram as que apresentaram leitura de densidade óptica (DO) próxima ou igual ao valor de CO estabelecido para cada teste.

Inibição da hemaglutinação (IH)

A técnica de IH foi utilizada para a confirmação dos resultados. As amostras foram testadas contra os flavivírus DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4, vírus da febre amarela

(YFV), vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) e vírus rocio (ROCV). Os antígenos para teste foram preparados a partir de cérebro de camundongos, albinos Swiss recém-nascidos, infectados e tratados por extração com sacarose-acetona.¹¹ Toda amostra que apresentou anticorpos inibidores da hemaglutinação a partir da diluição de 1/20 foi considerada positiva.^{12,13}

Ética em pesquisa: não foram evidenciados conflitos de interesses entre as empresas fornecedoras e produtoras de *kits* e o laboratório de saúde pública (IAL). As amostras dos pacientes foram recebidas pelo laboratório com solicitação de diagnóstico para dengue e identificadas apenas por números. A identidade dos pacientes foi mantida em sigilo.

RESULTADOS

O *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad) foi o teste que apresentou maior sensibilidade (95%) e menor especificidade (47%). Quanto à especificidade, o *kit* Early Elisa NS1 (Panbio) apresentou o melhor desempenho (71%) e o Duo Test (BIOEASY) foi o segundo teste com maior especificidade (68%). O *kit* Duo Test (Bioeasy) obteve o maior valor preditivo positivo (70%) e o *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad) apresentou o maior valor preditivo negativo (92%) (Figura 1).

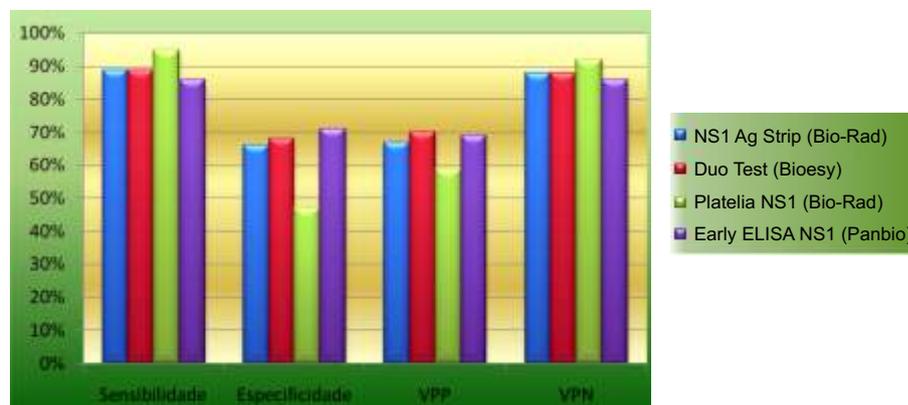


Figura 1. Valores de sensibilidade, especificidade, preditivo positivo e preditivo negativo, determinados para os *kits* de diagnósticos de NS1-dengue.

Como o painel de amostras para a avaliação foi heterogêneo em relação aos dias decorridos de infecção, foram selecionadas as amostras coletadas até o terceiro dia para uma análise mais detalhada, por serem essas as mais indicadas para avaliação na utilização de isolamento viral como técnica de referência.

Quando a sensibilidade dos testes foi calculada em relação aos dias decorridos após início dos sintomas, o *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad) foi positivo em 50 das 54 amostras recebidas entre os dias 0-3 de doença, com sensibilidade de 93,1% e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) = 83,6 - 97,2%. O Early ELISA NS1 (Panbio) foi positivo em 45 das 54 amostras, com sensibilidade de 85,7% e IC 95% = 75,0% - 92,3% (Quadro 1). Os *kits* NS1 Ag Strip (Bio-Rad) e Duo Test (Bioeasy) foram positivos em 48 das 54 amostras recebidas entre 0-3 dias de doença, com sensi-

bilidade de 90% e IC 95% = 79,8 - 95,3% (Quadro 1).

No período de 4-6 dias de doença, o *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad) resultou na maior sensibilidade (86%), seguido pelo, *kit* Early ELISA NS1 (Panbio), com sensibilidade de 80%. Os *kits* formato imunocromatográfico, NS1 Ag Strip (Bio-Rad) e Duo Test (Bioeasy), apresentaram a menor sensibilidade (73%).

O isolamento de vírus em cultura de células mostrou-se mais eficaz até o quarto dia de doença. No quinto e sexto dias o isolamento detectou a presença do vírus em algumas amostras, porém os *kits* tiveram mais amostras reagentes no mesmo período (Tabela 1). A partir do sexto dia o isolamento em cultura de célula não detectou a presença do vírus em nenhuma amostra, assim como os *kits*, à exceção do Platelia NS1 (Bio-Rad), que obteve duas amostras positivas nesse período.

Quadro 1. Sensibilidade para os quatro *kits* testados em relação aos dias de doença e intervalo de confiança.

<i>Kits</i> analisados	Sensibilidade (0-3 dias de doença)	Intervalo de confiança (IC 95%)
NS1 Ag Strip (Bio- Rad)	90,0%	79,8-95,3
Duo Test (Bioeasy) Strip	90,0%	79,8-95,3
Platelia NS1 (Bio-Rad) ELISA	93,1%	83,6-97,2
Early ELISA NS1 (Panbio)	85,7%	75,0-92,3

Tabela 1. Número de dias de doença e amostras processadas para isolamento de DENV.

Dias/doença	Nº (% de amostras)	DENV-1	DENV-2	DENV-3	NEG	Amostras positivas (%)
1	21 (15,4)	9	1	9	2	13,9
2	22 (16,2)	4	5	9	4	13,2
3	11 (8,1)	7	1	3	0	8,1
Sub-total	54 (39,7)	20	7	21	6	35,3
4	17 (12,5)	1	3	7	6	8,1
5	27 (19,8)	0	0	3	24	2,2
6	26 (19,1)	0	0	2	24	1,5
Sub-total	70 (51,5)	1	3	12	54	11,8
7	6 (4,4)	0	0	0	6	0
8	3 (2,2)	0	0	0	3	0
9	1 (0,7)	0	0	0	1	0
10	2 (1,5)	0	0	0	2	0
Sub-total	12 (8,8)	0	0	0	12	0
Total	136 (100,0)	21	10	33	72	47,1

Considerando-se o n=136, correspondente ao número de amostras que foram coletadas até o décimo dia de doença e processadas para tentativa de isolamento viral, observou-se que 39,7% das amostras foram coletadas até o terceiro dia após início dos sintomas; dentre elas, 35,3% foram positivas para um dos três sorotipos de DENV. Do quarto ao sexto dia de doença foram processadas 51,5% das amostras, das quais apenas 11,8% resultaram positivas pela técnica de isolamento de vírus. Após o sexto dia não se obteve nenhum isolamento de vírus (Tabela 1).

Quanto à sensibilidade, de acordo com os sorotipos de DENV: o *kit* Platelia Dengue NS1 (Bio-Rad) foi o mais sensível para o DENV-1 (100%); os *kits* NS1 Ag Strip (Bio-Rad) e o Duo Test (Bioeasy) apresentaram sensibilidade de 95% cada; e o Early ELISA NS1 (Panbio) obteve a menor sensibilidade (90%) para o DENV-1 (Figura 2).

Para o DENV2, o *kit* Platelia Dengue NS1 (Bio-Rad) também apresentou a maior sensibilidade (78%), já o Early ELISA NS1 (Panbio) obteve sensibilidade de 70% e os *kits* NS1 Ag Strip (Bio-Rad)

e o Duo Test (Bioeasy) apresentaram sensibilidade de 50% cada (Figura 2). Os *kits* Platelia Dengue NS1 (Bio-Rad), NS1 Ag Strip (Bio-Rad) e Duo Test (Bioeasy) apresentaram sensibilidade de 97% cada para o DENV-3 e o Early ELISA NS1 (Panbio) sensibilidade de 87% (Figura 2). Do total de amostras analisadas (147), em apenas 13 obteve-se resultados inconclusivos para um ou mais dos *kits* testados (Quadro 2).

Quando calculadas as porcentagens de discordância de resultados entre amostras inconclusivas, o teste Platelia NS1 Bio-Rad ELISA foi o que apresentou menos resultados discordantes em relação aos testes utilizados como referência. Utilizou-se também o teste de inibição da hemaglutinação (IH) para confirmar os resultados do MAC-ELISA.

Das 30 amostras positivas para outros agravos, apenas uma foi positiva para herpes e para dengue no *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad), com especificidade de 97%. Os demais *kits* NS1 analisados nesse estudo apresentaram 100% de especificidade para esse grupo de amostras.

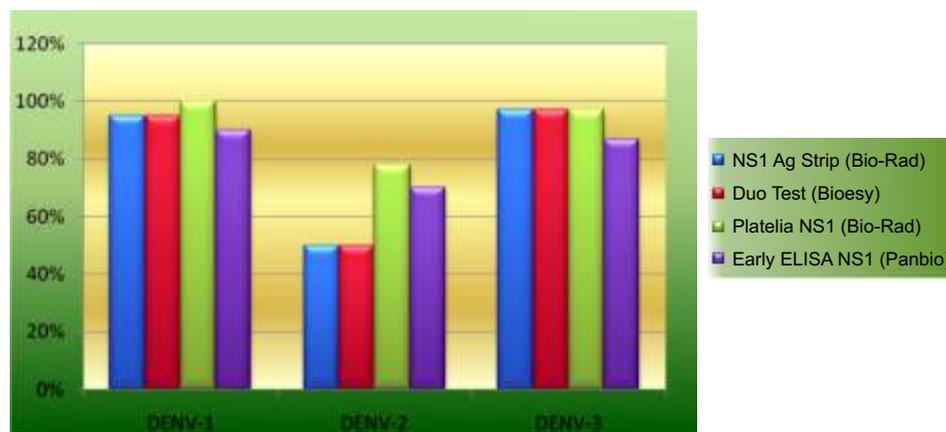


Figura 2. Sensibilidade dos *kits* de acordo com os sorotipos da dengue.

Quadro 2. Amostras com resultados inconclusivos nos kits NS1 e resultados de MAC-ELISA e inibição da hemaglutinação (IH).

Nº	Isol.**	Dias***	Bio-Rad NS1	Bioeasy NS1	NS1 Bio-Rad ELISA	Pan E Early ELISA NS1	MAC. ELISA	IH
278.618	NEG	5	Positivo	Inc.****	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
279.271	POS	4	Positivo	Positivo	Positivo	Inc.	Negativo	Negativo
288.112	NEG	5	Negativo	Negativo	Inc.	Negativo	Positivo	DEN1,2,3,4 (5)*
288.156	POS	4	Negativo	Negativo	Inc.	Negativo	Negativo	Negativo
289.067	NEG	6	Negativo	Inc.	Negativo	Negativo	Positivo	DEN2 (3)*
291.083	NEG	5	Negativo	Negativo	Inc.	Negativo	Inc.	Negativo
294.212	NEG	4	Positivo	Positivo	Positivo	Inc.	Positivo	DEN2(2)*, DEN3,4(3)*
298.289	NEG	5	Negativo	Negativo	Inc.	Negativo	Positivo	Negativo
301.287	NEG	6	Negativo	Negativo	Inc.	Negativo	Positivo	DEN1,3 (4),DEN2,4(5)*
301.294	NEG	6	Inc.	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	DEN1,2,3,4 (5)*
301.325	NEG	6	Positivo	Inc.	Positivo	Negativo	Positivo	DEN1 (2)*
301.620	NEG	6	Positivo	Inc.	Positivo	Negativo	Positivo	DEN1,2 (4)*, DEN3(3)*, DEN4 (2)*
301.667	NEG	6	Positivo	Inc.	Positivo	Positivo	Positivo	DEN1(2)*

*número que representa título de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH): 1(1/10); 2(1/20); 3(1/40); 4(1/80); 5(1/160)

**Resultado de isolamento de vírus em cultura de células

***Dias de doença.

****Inconclusivo

DISCUSSÃO

Os exames específicos para diagnóstico de dengue têm a finalidade de orientar ações de vigilância epidemiológica, uma vez que a conduta terapêutica raramente será alterada em função da confirmação pelo laboratório de uma infecção por DENV.¹⁴

O isolamento viral seguido de imuno-fluorescência indireta é a técnica considerada referência para detecção e identificação do DENV. Entretanto, esse procedimento requer instalações apropriadas, apresenta custo elevado e demora cerca de 7 a 10 dias para ser concluído. Além disso, após o terceiro dia do início dos sintomas o nível de anticorpos começa a subir, interferindo no resultado e na sensibilidade do isolamento (Tabela 1).¹⁵

O teste de rotina para diagnóstico sorológico da dengue é o ensaio imunoenzimático de captura de anticorpos IgM, também denominado MAC-ELISA ou ELISA *in house*, que, apesar de apresentar bons resultados, somente detecta a doença em sua fase aguda tardia (a partir do quinto dia

do início dos sintomas), quando os títulos de anticorpos IgM são evidenciados.

Para realizar o diagnóstico pela detecção de anticorpos IgG são necessárias duas amostras de soro, uma da fase aguda e outra da fase convalescente da infecção. Os anticorpos IgG são detectáveis por kits comerciais ou pela técnica clássica em virologia, a inibição da hemaglutinação (IH).

Pode-se afirmar que a infecção é recente se houver uma conversão sorológica, caracterizada por um aumento de quatro vezes no título de anticorpos da primeira para a segunda amostra. A presença de anticorpos IgG em títulos altos nos soros dos pacientes, para todos os sorotipos de DENV na primeira semana de doença, sugere uma infecção secundária. Esse teste tem como desvantagem requerer duas amostras de soro e apresentar reações cruzadas para outros flavivírus.

Nesse contexto, uma alternativa significativa aos métodos tradicionais é a imuno-

cromatografia, pois trata-se de uma tecnologia inovadora que concentra a reação antígeno/anticorpo em uma única fase sólida, sendo esta mantida em temperatura ambiente. Possui alta sensibilidade, não exige equipamentos ou treinamento específico para realização do teste, e ainda gera o resultado em poucos minutos. A utilização desse novo método seria importante para regiões mais carentes de infraestrutura do País, onde não se dispõe de centros especializados de saúde ou laboratórios de análises.

Os métodos imunoenzimáticos para captura da proteína NS1 para diagnóstico de dengue permitem análise de um grande número de amostras, são de execução simples e proporcionam em um curto período resultados confiáveis.

Para se obter o isolamento do vírus é necessário que a amostra em estudo contenha a partícula viral íntegra. A detecção da proteína NS1 não indica necessariamente que a partícula viral esteja íntegra ou infectante. Esse fato, associado à manipulação e armazenamento das amostras, pode ter contribuído com o menor número de resultados positivos no isolamento viral em relação aos *kits* testados.

Pacientes com viremia muito baixa podem não apresentar NS1 mensurável, o que poderia explicar os resultados falsos negativos nos *kits*. Nos casos mais graves da doença os testes para diagnóstico são sensíveis. A sensibilidade depende da severidade da doença na população estudada. A especificidade depende da prevalência de co-morbidades com sintomas similares, fatores de confusão. A possibilidade da presença dessas tendências deve ser considerada quando se analisa os resultados de testes diagnósticos.¹⁶

Os quatro *kits* testados apresentaram maior sensibilidade quando as amostras foram coletadas no período de 0 ao 3º dia de doença. Dados publicados recentemente confirmam a maior sensibilidade para detecção de NS1 até o terceiro dia de doença.^{17,18,19}

Do quarto ao sexto dia, a sensibilidade foi menor se comparada com o período anterior, pois há o início da produção de anticorpos para DENV. A partir do sexto dia, não se obteve nenhum isolamento de vírus. Igualmente negativos foram os resultados com *kits* de detecção da proteína NS1. Isso era esperado, dado que o nível de anticorpos IgM está em elevação. Sendo assim, a melhor técnica para o diagnóstico passa a ser o ensaio MAC-ELISA.²⁰

Tanto para a técnica de isolamento viral como para os *kits* de captura da proteína NS1 observou-se maior positividade nas amostras coletadas até o terceiro dia de doença. Portanto, a recomendação de coleta de amostras até o terceiro dia de doença é imprescindível para o bom desempenho dessas metodologias.

Com o passar dos dias, desde o início dos sintomas, a sensibilidade dos *kits* diminui, provavelmente como reflexo da redução da carga viral e da proteína NS1. Também em outros estudos foi escassa a presença da proteína NS1 entre o sétimo e o nono dia e inexistente após esse período.⁶

Os *kits* testados apresentaram maior sensibilidade para os sorotipos DENV-1 e DENV-3 e menor sensibilidade para o sorotipo DENV-2. Outros estudos também evidenciaram variações de sensibilidade em relação aos sorotipos DENV-3²¹ e DENV-2 e DENV-4.^{22,23}

Estudos mostram que a sensibilidade reduzida para o DENV-2 poderia estar relacionada à resposta sorológica dos pacientes infectados.⁷ Outra explicação seria a menor afinidade do NS1-sonda específica e anticorpos monoclonais detectores (conjugado) para

o DENV-2 ou talvez a baixa circulação desse sorotipo no período estudado.⁷

No Estado de São Paulo o sorotipo DENV-4 foi detectado em 2011, portanto não foi possível avaliar os *kits* com relação a esse sorotipo.

A amostra com diagnóstico confirmado para herpes, reagente pelo *kit* Platelia NS1 (Bio-Rad), é provavelmente um resultado falso positivo. Salienta-se que esse *kit* foi o que apresentou a maior sensibilidade e menor especificidade.

Para completar a análise, o teste de IH foi realizado para confirmar os resultados do MAC-ELISA e para evidenciar infecções secundárias. As infecções secundárias são caracterizadas por apresentarem resposta fugaz de anticorpos IgM, rápido aumento de anticorpos IgG e, conseqüentemente, dificuldade para detecção de NS1 e isolamento de vírus.

Os anticorpos inibidores da hemaglutinação, na primeira infecção, são detectáveis a partir do sétimo dia de doença. Porém, a presença desses anticorpos em títulos altos antes do sétimo dia é sugestiva de infecção secundária corrente por DENV ou outro flavivírus.

Vale destacar a amostra SPH 288112, obtida no quinto dia de doença, com resultado reagente no MAC-ELISA e título de anticorpos inibidores da hemaglutinação elevado para os quatro sorotipos do DENV. Essa amostra resultou inconclusiva apenas no teste NS1 Bio-Rad ELISA, sinalizando uma possível infecção. Nos demais *kits* estudados a amostra apresentou resultado não reagente (Quadro 2).

Em infecções secundárias a pré-existência de anticorpos diminui a sensibilidade dos *kits* NS1. Assim, deve-se complementar o diagnóstico com pesquisa de anticorpos IgM e IgG para aumentar a sensibilidade na detecção de casos.²⁴ Os *kits* imunocromatográficos

Bio-Rad e Bioeasy, quando utilizados com amostras de pacientes coletadas entre 4 e 6 dias pós-infecção, apresentaram menor sensibilidade (73%).

As diferenças nos resultados apresentados e os obtidos por outros estudos podem estar relacionadas à escolha das amostras para o painel, ao número de amostras positivas para cada sorotipo, à presença de amostras de pacientes com infecções primárias ou secundárias e também ao número elevado de amostras com coleta na fase aguda tardia de infecção.

CONCLUSÃO

A utilização de *kits* de diagnóstico rápido para a detecção da proteína NS1 pode ser uma importante ferramenta para otimizar os recursos no monitoramento dos sorotipos de DENV circulantes, se utilizados como teste de triagem de amostras destinadas ao isolamento de vírus.

É importante lembrar que a capacidade laboratorial para atender à demanda de amostras para isolamento de vírus dengue não pode ser comparada àquela de testes imunocromatográficos ou imunoenzimáticos, devido à alta complexidade e o custo elevado da técnica de isolamento de vírus. Os *kits* testados apresentaram resultados rápidos e confiáveis, podendo ser usados para diagnóstico, desde que as amostras sejam obtidas na fase inicial da infecção – até o terceiro dia de doença. Entretanto, é recomendável sempre o uso associado a outros critérios, como clínico e epidemiológico, ou mesmo outras técnicas laboratoriais.

Os *kits* Dengue NS1 Ag Strip (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França), Dengue Duo Test (Bioeasy Diagnóstica) e PlateliaTM Dengue NS1 Ag Kit (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França) foram os que apresentaram maior sensibilidade e valor

preditivo negativo. O Dengue Early ELISA (Panbio Europa), de acordo com as condições em que foi testado, deve melhorar a sensibilidade.

Quando o objetivo é subsidiar as ações da vigilância epidemiológica e de controle de vetores, o prejuízo causado pela emissão de um resultado falso positivo é menor do que aquele causado pelo falso negativo. Por isso, a escolha por um teste diagnóstico deverá sempre levar em consideração a alta sensibilidade.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 7. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
2. World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva, 2009.
3. Pires Neto RJ, Lima DM, Paula SO, Lima CM, Rocco IM, Fonseca BAL. Molecular epidemiology of type 1 and 2 dengue viruses in Brazil from 1988 to 2001. *Brazilian J Med Biol Res.* 2005;38(6):843-52.
4. Deubel V, Nogueira RMR, Drouet MT, Zeller M, Reynes J, MA DQ. Direct sequencing of genomic cDNA fragment amplified by the polymerase chain reaction for molecular epidemiology of dengue 2 virus. *Arch Virol.* 1992;129:197-210.
5. Santos NOS, Romanos MTV, Wigg MD. Introdução à virologia humana. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2. ed.; 2002.
6. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, Flamand DM. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J Clin Microbiol.* 2002;40:376-81.
7. Shu PY, Yang CF, Kao JF, Su CL, Chang SF, Lin CC, et al. Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:589-91.
8. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Clinical epidemiology: the essentials.* Baltimore: Williams & Wilkins; 2. ed, 1988.
9. Guedes MLS. & Guedes J S. *Bioestatística para profissionais de saúde.* Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia/ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/Ao Livro Técnico S. A.;1988.
10. Gubler DJ, Kuno G, Sather GE, Velez M, Oliver A. Mosquito cell culture and specific

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos colegas do Núcleo de Doenças de Transmissão Vetorial (NDTV) do Centro de Virologia do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Central: Antonia Torres Marti, Vera Maura Barbosa, Selma Marina C. Petrella e Felipe Scassi Salvador, pela produção de reagentes biológicos e colaboração na realização dos testes. Às empresas Bioeasy, Bio-Rad e Medivax pela doação de *kits* para estudo.

- monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 1984;33:158-65.
11. Casals J. Immunological technique for animal viruses. In: Moramorosh K, Koprowski H (eds): *Methods in virology*. 3. ed. New York: Academic Press; 1967, p.175-81.
 12. Sever JL. Application of a microtechnique to viral serological investigations. *J Immunol.* 1962;88:320-9.
 13. Clarke DH, Casals J. Technique for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 1958;7:561-73.
 14. Poersch CO. Desenvolvimento e avaliação de métodos moleculares para o diagnóstico da dengue. [tese de doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2007.
 15. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the Dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1053-7.
 16. Fonseca BAL, Fonseca SNS. Dengue virus infections. *Curr Opin Pediatr.* 2002; 14(1):67-71.
 17. Dussart P, Labeau B, Lagathu G, Louis P, Nunes MRT, Rodrigues SG, et al. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(11):1185-9.
 18. Hang VT, Nguyet NM, Trung DT, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, et al. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viremia and antibody response. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(1):e360.
 19. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, Moua D, et al. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute virus infection using NS1 antigen detection in human serum. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2:e208.
 20. Kuno G, Gomez I, Gubler DJ. Detecting artificial anti dengue IgM complexes using a enzyme linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg.* 1987;36:153-9.
 21. Lima MRQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FB.. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(7):e738.
 22. McBride WJH. Evaluation of dengue NS1 test kits for the diagnosis of dengue fever. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;64:31-6.
 23. Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B, et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with Dengue virus in Venezuela. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;65:247-53.
 24. Tricou V, Vu TTH, Quynh NVN, Nguyen CVV, Tran TH, Farrar J, et al. Comparison of two dengue NS1 tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases.* 2010;10:142.

Recebido em: 03/01/2011
Aprovado em: 05/05/2011

Correspondência/correspondence to:

Ivani Bisordi
Av. Dr. Arnaldo, 355 – Cerqueira César – CEP: 01246-902 – São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3068-2901/2902 – Fax: 11 3085-3505 – E-mail: ibisordi@ial.sp.gov.br

Nota

Consema aprova novos padrões de qualidade do ar para São Paulo

Consema approves new quality patterns for the air in São Paulo

Centro de Vigilância Sanitária. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

Em maio último, o Conselho Estadual do Meio Ambiente (Consema) deliberou que o Estado de São Paulo deve adotar padrões mais rígidos para a qualidade do ar que os cidadãos paulistas respiram. A decisão ganhou amplo destaque na mídia e despertou a atenção da opinião pública, pois com ela São Paulo passa a ser um dos primeiros Estados no mundo a referenciar suas políticas públicas em conformidade com as metas preconizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para novos padrões de qualidade do ar.

A iniciativa sinaliza o anseio da sociedade por um ambiente menos poluído – mais saudável, portanto – e representa um grande passo na convergência das políticas públicas de meio ambiente e de saúde. A iniciativa também reforça a percepção geral de que a poluição atmosférica é assunto merecedor do olhar atento das instituições que lidam com a promoção da saúde e com a prevenção ou minimização dos fatores ambientais de risco.

Tal entendimento torna-se evidente em São Paulo, Estado com 41,6 milhões de habitantes e historicamente reconhecido pelos impactos ambientais decorrentes de processos de urbanização e industrialização extremamente intensos e agressivos. No que concerne à qualidade do ar, as 50 mil indústrias e os cerca de 14 milhões de veículos automotores que se instalaram ou transitam no território paulista liberam uma quantidade considerável de poluentes, como monóxido de carbono, hidrocarbonetos, óxidos de nitrogênio, óxidos de enxofre e material particulado.

Apenas na Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) estima-se que sejam emitidas anualmente

3 milhões de toneladas desses poluentes no ar respirado pelos 20 milhões de paulistas que nela habitam. Logo, para cada cidadão da RMSP são lançados anualmente na atmosfera, além de outros poluentes, o equivalente a 150 quilos de contaminantes; uma fração deles inalados e absorvidos pelos organismos de milhões de pessoas, sujeitas, por consequência, a variados graus de incômodos e de doenças.

Por conta disso, ao setor saúde é reservado papel importante na condução integrada de políticas públicas voltadas à minimização da poluição atmosférica e à proteção contra os efeitos adversos decorrentes de cenários de intensa emissão de contaminantes, caso das regiões metropolitanas e de outras regiões paulistas urbanizadas e industrializadas.

Merece destaque, então, o papel ativo assumido pela área da saúde na aprovação dos novos padrões de qualidade do ar – condizente com suas prerrogativas e responsabilidades na promoção da saúde e na prevenção de riscos –, assunto historicamente pautado por políticas públicas setoriais de regulação. Nelas, até então, a legislação ambiental sempre prevaleceu, conferindo atribuições e responsabilidades direcionadas aos órgãos de meio ambiente.

Além disso, deve ser dado relevo ao fórum no qual se deu o debate e o processo que subsidiou e conferiu substrato à aprovação dos novos padrões. A estratégia da saúde para se apropriar e atuar com mais ênfase no assunto foi fomentá-lo, em consonância com a pasta de Meio Ambiente, no Consema, espaço de discussão democrática dos problemas ambientais de São Paulo, cuja composição contempla representantes de órgãos do Estado – dentre os

quais a Secretaria Estadual da Saúde – e da sociedade civil. As atribuições do Conselho abrangem o acompanhamento e a avaliação da política ambiental e o estabelecimento de normas e padrões ambientais, além da apreciação de estudos e relatórios de impacto sobre o meio ambiente.

Foi a partir de manifestações contra a má qualidade do ar na Região Metropolitana de São Paulo, expressas em reunião plenária do Consema, em março de 2008, que se impôs a oportunidade de uma gestão mais integrada e renovada para regulação de riscos sanitários e ambientais associados à poluição atmosférica, até então regulamentada por legislações ambientais do Estado e da União, respectivamente, de 1976 e de 1990*. Do debate plenário resultou deliberação para que se ampliasse o conhecimento e se discutisse os meios de enfrentamento do problema. Para tanto, foi instituído no Consema um grupo de trabalho coordenado pelas representações das pastas do Meio Ambiente e da Saúde com o propósito de organizar evento sobre a qualidade do ar, tendo por base os novos padrões, metas e estratégias preconizados pela OMS, em 2005.

Como resultado desse trabalho, foi realizado, em novembro de 2008, o Seminário Internacional Políticas Públicas e Padrões de Qualidade do Ar na Macrometrópole Paulista, que teve ampla repercussão nos meios técnicos e na opinião pública por abranger experiências nacionais e internacionais de gestão**, passando a balizar os encaminhamentos que precederam a aprovação dos novos padrões para São Paulo. A partir das recomendações resultantes do debate, ocorrido nas apresentações

plenárias e na oficina de trabalho do seminário, e de nova apreciação e deliberação do Consema, as Secretarias de Saúde e de Meio Ambiente publicaram resolução conjunta*** criando, em dezembro de 2009, um Grupo de Trabalho Interinstitucional para Revisão dos Padrões e Aprimoramento da Gestão Integrada da Qualidade do Ar no Estado de São Paulo.

Procurou-se conferir ao grupo ampla representação institucional, com a participação de profissionais de quatro secretarias estaduais, duas municipais, duas faculdades, dois órgãos federais e duas entidades empresariais, além de conselheiros do próprio Consema****. Depois de seguidas rodadas de reuniões, o grupo de trabalho finalizou seu relatório em novembro de 2010.

Observando etapas progressivas de abordagem do assunto, os trabalhos se pautaram especialmente em quatro aspectos: (1) as evidências científicas referenciadas pela OMS que associam contaminantes atmosféricos a riscos e efeitos à saúde; (2) a implantação gradual de metas para melhoria da qualidade do ar; (3) as simulações de cenários de qualidade do ar baseadas nas relações entre a condição atual de poluição e os padrões sugeridos; e (4) as ponderações entre os benefícios sociais e os custos econômicos das medidas a serem adotadas. Sustentadas nesses aspectos, as abordagens voltaram-se para nove contaminantes previamente acordados como prioritários: dióxido de enxofre (SO₂), monóxido de carbono (CO), material particulado (MP₁₀ e MP_{2,5}), partículas sólidas em suspensão (PTS), fumaça (FMC), chumbo (Pb), dióxido de

*Trata-se do Decreto 8.468/76 e da Resolução Conama 03/90, que estabeleceram padrões de qualidade do ar, respectivamente, no território paulista e nacional.

**O seminário contou com público de 300 profissionais e apresentações de diversas instituições, entre elas a Agência Ambiental Americana (Environmental Protection Agency – EPA), União Européia (European Commission/Joint Research Centre – JRC) e a Organização Mundial da Saúde. Seu principal objetivo foi promover o debate acerca dos padrões de qualidade do ar para alinhar e aprimorar políticas públicas de meio ambiente e da saúde direcionadas ao tema.

***A Resolução Conjunta SMA/SES 04/2009 instituiu o grupo de trabalho interinstitucional, cujos representantes foram nomeados, em março de 2010, por meio da Resolução Conjunta SMA/SES 01/2010.

****Além das Secretarias de Estado da Saúde e do Meio Ambiente, coordenadoras do grupo, participaram as Secretarias de Estado do Desenvolvimento e dos Transportes Metropolitanos; pelas instâncias municipais, foram convidadas as Secretarias de Transporte e do Verde e do Meio Ambiente de São Paulo; representando a universidade, as Faculdades de Saúde Pública e de Medicina da USP; na esfera federal, o Ministério do Meio Ambiente e a Agência Nacional de Petróleo; e, por fim, pelas entidades empresariais, a Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores e a Federação das Indústrias do Estado de São Paulo.

nitrogênio (NO₂) e ozônio (O₃). Na conclusão do relatório do grupo de trabalho foram propostos novos padrões para esses contaminantes, assim como prazos graduais (metas intermediárias) para sua vigência, tendo por meta final os valores de referência da OMS.

Nessa sequência, foi sugerido que a primeira meta (meta intermediária 3) passasse a valer de imediato, com prazo de três anos para transição à meta imediatamente mais restritiva (meta intermediária 2), condicionada à avaliação da efetividade das medidas adotadas na meta 3 para controle das emissões. Tais passos teriam idêntica sequência até atingir o padrão final de referência da OMS. O relatório propôs, ainda, que sejam monitorados outros contaminantes de interesse sanitário, elaborado um detalhado inventário das fontes de poluição, aprimoradas as normas vigentes e os sistemas de informação, bem como instituído grupo interinstitucional no âmbito do Consema para acompanhar a evolução das políticas públicas e da qualidade do ar no Estado de São Paulo.

Finalmente, em maio de 2011, com ampla cobertura da mídia, esse relatório foi pautado na 283^a Reunião Ordinária do Plenário do Consema, quando se debateu abertamente os pontos de vista sobre a situação e os contextos que implicam condições adversas à saúde da população devido à concentração de poluentes na atmosfera. Majoritariamente, as manifestações em plenário afirmaram a pertinência das propostas expressas no relatório e a necessidade premente de se legislar no sentido da adoção dos novos padrões.

Setores algo refratários à proposta argumentaram que seria mais apropriado que a iniciativa partisse da esfera federal, seguindo São Paulo as

diretrizes que de lá então proviessem. O argumento não prevaleceu, fato que reafirma o papel do Estado como instância sensível aos anseios da população e São Paulo como referência nacional na gestão e regulação de fatores ambientais de risco à saúde, como demonstraram antes as abordagens e enfrentamentos dos problemas relativos, dentre outros, às áreas contaminadas, à exploração de aquíferos, à gestão integrada de recursos hídricos e à qualidade da água para consumo humano.

Mais recentemente, a ação incisiva do Governo do Estado, em conjunto com setores representativos da sociedade civil, no enfrentamento dos riscos à saúde advindos da poluição do ar em ambientes fechados, devido ao uso intensivo de produtos à base de tabaco (lei antitabaco), tornou patente que São Paulo presta grande serviço à nação ao se colocar à frente e lidar de forma pioneira com problemas que, muitas vezes, lhe são impostos com maior intensidade, condição de um Estado com longo histórico de progresso, mas também de problemas ambientais e sanitários.

Após a deliberação do Consema que aprovou a adoção dos novos padrões de qualidade do ar, resta agora instituí-los por meio de decreto, que, nos termos do deliberado, deverá ser redigido conjuntamente pelas pastas da Saúde e do Meio Ambiente, consolidando uma visão integrada do problema. Padrões mais rígidos para a qualidade do ar em território paulista conduzirão ao aprimoramento das políticas públicas de vigilância dos riscos e controle das fontes fixas ou móveis de poluição, atitude necessária para a redução das morbimortalidades associadas à poluição e premissa fundamental para a melhoria da qualidade de vida da população.

Correspondência/correspondence to:
Luís Sérgio Ozório Valentim
Av. Dr. Arnaldo, n° 351, Anexo 3 – Cerqueira César
CEP: 01246-000 – São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3065-4600
E-mail: lvalentim@cvs.saude.sp.gov.br

Diagnóstico epidemiológico de infectividade para *Rickettsia rickettsii* em *Amblyomma* spp. no município de Americana, SP

José Brites Neto; Keila Maria Roncato Duarte (orientadora)

Instituto de Zootecnia. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Nova Odessa, SP, Brasil, 2011 [Dissertação de Mestrado
Área de Concentração: Produção Animal Sustentável – Programa de Pós-graduação em
Produção Animal Sustentável]

A febre maculosa brasileira (FMB) é uma antropozoonose de notificação compulsória, com características epidemiológicas de elevada endemicidade e alta letalidade. O presente estudo teve por objetivo realizar um diagnóstico epidemiológico de infectividade para *Rickettsia rickettsii* em uma população de 3.548 carrapatos adultos de vida livre, coletados em 83 pesquisas acarológicas, identificados como *Amblyomma cajennense* (2.355) e *Amblyomma dubitatum* (1.193). Foi verificada a sazonalidade da população das espécies de carrapatos coletadas no período de julho/2009 a junho/2010. Dos carrapatos adultos, 702 foram submetidos ao teste de hemolinfa e 2.197 dissecados para remoção de glândulas salivares para extração de DNA e avaliação por *gltA*-PCR e *ompA*-PCR. As áreas avaliadas para FMB apresentaram índices entre 1,2% e 8,8% de amostras positivas para *gltA*-PCR, sendo todas negativas para *ompA2*-PCR, em espécies *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum*, nas áreas de alerta e risco do município de Americana, São Paulo. No contexto da produção animal sustentável, os objetivos deste projeto contribuíram no mapeamento da distribuição das espécies de carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* e na avaliação da prevalência de infecção nos mesmos para *Rickettsia* spp., possibilitando melhor entendimento sobre as reais interferências nos potenciais bióticos de áreas de preservação contíguas às áreas de produção agropecuária e mensurando eventuais riscos para pesquisas zootécnicas realizadas no Centro de Pesquisa em Pecuária de Leite do Instituto de Zootecnia, situado em Americana.

PALAVRAS-CHAVE: *Amblyomma cajennense*. *Amblyomma dubitatum*. Febre maculosa brasileira. PCR. *Rickettsia* spp.

Correspondência:

José Brites Neto
Av. Bandeirantes, nº 2.390 – Jardim Colina
CEP: 13465-150 – Americana/SP – Brasil
Tel.: 55 19 3472-9388
E-mail:samevet@yahoo.com.br

Infectivity epidemiological diagnose of Rickettsia rickettsii from Amblyomma spp. at Americana municipality, SP

José Brites Neto; Keila Maria Roncato Duarte (orientadora)

Instituto de Zootecnia. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Nova Odessa, SP, Brasil, 2011 [Dissertação de Mestrado
Área de Concentração: Produção Animal Sustentável – Programa de Pós-graduação em
Produção Animal Sustentável]

Brazilian spotted fever (BSF) is an anthroponozoonosis with epidemiological characteristics of high endemicity and high lethality. The present study was designed to perform an epidemiologic diagnosis of infectivity for *Rickettsia rickettsii* in a population of 3,548 adult free living ticks, collected in 83 acarologist researches, identified as *Amblyomma cajennense* (2,355) and *Amblyomma dubitatum* (1,193). Seasonality was verified of the population of the species of ticks collected during the period comprised between July, 2009 and June, 2010. Among the adult ticks, 702 were submitted to the hemolymph test and 2,197 were subjected to dissection in order to remove salivary glands for DNA extraction and evaluation of *gltA*-PCR and *ompA*-PCR. Areas evaluated for BSF presented indexed between 1.2% and 8.8% of positive samples for *gltA*-PCR, and were all negative for *ompA*-PCR, in species *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*, in the areas of alert and risk located in the city of Americana, São Paulo. In the context of sustainable animal production, the objectives of this project contributed to the mapping of the distribution of the species *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* of ticks and for the evaluation of the infection prevalence in the same ticks for *Rickettsia* spp., ensuing a better understanding of the real interferences on the biotic potentials in preservation areas contiguous to areas dedicated to husbandry and measuring eventual risks to zootechnical research performed in the Research Center for Cattle Raising and Milk of the Zootechnical Institute, located in Americana.

KEY WORDS: *Amblyomma cajennense*. *Amblyomma dubitatum*. Brazilian spotted fever. PCR. *Rickettsia* spp.

Correspondence to:

José Brites Neto
Av. Bandeirantes, nº 2.390 – Jardim Colina
CEP: 13465-150 – Americana/SP – Brasil
Tel.: 55 19 3472-9388
E-mail:samevet@yahoo.com.br

Nota

Fernando Fiuza de Melo: uma vida dedicada à pesquisa científica para o enfrentamento da tuberculose

Fernando Fiuza de Melo: a life dedicated to scientific research fighting tuberculosis

Centro de Produção e Divulgação Científica. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil



A luta contra a tuberculose perdeu um dos seus mais combativos soldados. Faleceu, no dia 9 de julho, Fernando Augusto Fiuza de Melo, médico pneumologista, diretor do Instituto Clemente Ferreira – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo –, referência no tratamento e pesquisa da tuberculose. Soldado em várias trincheiras, Fernando percorreu o caminho da militância política de orientação ideológica de esquerda para a militância científica e clínica contra a tuberculose. Coerente, dedicou seu tempo, sua inteligência e sua saúde ao que sempre o afligiu: as desigualdades sociais e o flagelo de uma doença intimamente ligada à pobreza.

Fernando nasceu em Belém, no Pará. Neto de fazendeiros que experimentaram

o apogeu e a decadência do Ciclo da Borracha, filho de contador e guardador de livros e da costureira Dona Orlandina, formou-se médico na capital paraense em 1968, em 11 de dezembro, apenas dois dias antes da edição do Ato Institucional nº 5, o AI 5. O jovem médico, que foi líder estudantil, passou a ser procurado pela polícia política da repressão. Precisou fugir de Belém e se embrenhar no interior da Amazônia, na zona do Araguaia. “Trabalhei como pequeno agricultor e mascate, vendendo remédio, porque não havia tido tempo de obter meu diploma”, contou Fernando. Na clandestinidade, sob o nome de Augusto Corrêa, ficou distante da medicina e trabalhou como publicitário em uma agência. Casou-se, teve seu primeiro filho e foi preso, em 1974, pela ditadura em Teresina (PI). Levado para Fortaleza (CE) foi submetido a torturas, mas durante a reclusão forçada providenciou seu reencontro com a medicina. “Nos oito meses de prisão reli os livros de medicina e, quando fui solto, consegui reaver meu diploma e comecei a fazer trabalhos clínicos em Belém”, lembrou.

Nessa época, seu futuro em terras paulistas começava a ser traçado. Um colega de turma, aluno do professor Oswaldo Ramos, convidou-o para vir a São Paulo. “Em 1975, mudei-me e comecei a frequentar um estágio na Escola Paulista de Medicina.” Já naquela época a fisiologia e a tuberculose eram seu foco de interesse. Então, em 1978, ingressou por concurso no

Instituto Clemente Ferreira, instituição na qual trabalhou até a sua morte.

A tuberculose como bandeira e muitas histórias para contar

A década de 1970

“Nessa época os conhecimentos sobre a tuberculose tinham evoluído de tal forma que já eram considerados suficientes para controlar a doença. Ou seja, havia um tratamento que levava à cura. E mais: com o desenvolvimento econômico e social do Primeiro Mundo, a doença passou a ser uma questão do Terceiro Mundo, em vias de extinção, tal como a varíola. Na década de 1970, a ideia que se tinha era essa. Tanto que se supunha que, no ano 2000, a tuberculose teria sido extinta nos Estados Unidos. A palavra de ordem da União Internacional de Luta Contra a Tuberculose era ‘Vencer a tuberculose agora e para sempre’. Textos afirmavam que já se sabia tudo sobre a doença, que nem mesmo despertava mais interesse da medicina atuante. Naqueles anos 1970, poucos queriam ser tisiologistas. Os novos médicos desejavam ser cardiologistas, oftalmologistas, reumatologistas ou pneumologistas, porque era isso que dava dinheiro(...)”.

A primeira metade do século 20

“Em 1923, um veterinário operava o pulmão de um porco e realizou a primeira pneumonectomia. Ele percebeu que o pulmão tinha partes independentes e que seria possível tirá-las. Isso deu origem a uma nova terapia cirúrgica para a tuberculose: começaram a operar o pulmão dos doentes e a tirar costelas, achatar a parede do tórax... Surgiu a chamada toracoplastia. O máximo do avanço na técnica do pneumotórax foram

as bolas de Lucite, um cara que imaginou, na década de 1940, colocar bolas de pingue-pongue dentro do pulmão, para ele parar de se expandir. Eu ainda vi em pacientes dos velhos tisiologistas as consequências desses tratamentos. Eu dizia para eles: ‘Vocês são pneus?’ Essa era a gíria para os submetidos ao pneumotórax. Aprendi tanto que eu sinto o cheiro da tuberculose. Aliás, isso é uma coisa interessante, porque a tuberculose de fato tem um cheiro, que eu aprendi com um doente. Ele dizia: ‘Doutor, estou cheirando a cachorro molhado de chuva.’ Eu vivia em sanatório e realmente esse é o cheiro da tuberculose, cheiro de roupa mofada (...).

A liderança na terapia contra a tuberculose na primeira metade do século 20 era dos cirurgiões. Dizia-se que quando um cirurgião famoso chegava a Campos do Jordão (SP), onde se situava o mais famoso sanatório brasileiro contra a tuberculose, era recebido com banda de música. A terapia cirúrgica de fato foi um passo novo. O regime higieno-dietético privilegiava o reforço ao hospedeiro, o doente, de forma que ele fosse fortalecido para vencer o bacilo. Já a cirurgia tentava impedir o bacilo de se multiplicar; e já se sabia que ele se multiplicava melhor dentro da cavidade pulmonar. Começou-se então a se experimentar vários medicamentos contra o bacilo. Por exemplo, sais de ouro, que eram usados para infecções, cálcio e os arsenicais. Até que surgiram as sulfas, a primeira grande descoberta de medicação capaz de atuar sobre germes (...).

As sulfas surgiram a partir dos avanços da química alemã e se mostraram eficazes contra o bacilo, mas ainda eram necessárias grandes quantidades... Até que, no rastro de [Alexander] Fleming, que havia descoberto a penicilina no início dos anos 1930, os antibióticos foram desenvolvidos, a partir da década de 1940. As bactérias da tubercu-

lose têm uma particularidade: apresentam as mesmas características dos fungos. O que Fleming descobriu foi que os fungos produzem determinada substância para agredir as bactérias, numa disputa de espaço vital no reino microscópico. Dessa batalha entre fungos e germes, surgiu a penicilina, que, todavia, não se mostrou muito eficaz contra a tuberculose. A tetraciclina, descoberta logo depois, teve alguma atuação, mas era ainda fraca e também exigia grandes quantidades. Mais tarde, um pesquisador norte-americano descobriu um novo fungo que produzia a estreptomicina, e esta foi uma beleza no combate à tuberculose. A partir dela, todos os doentes passaram a se tornar negativos; foi a grande revolução medicamentosa contra a doença, de tal porte que todo o resto entrou para o museu da história.

Em 1949, uma substância já conhecida desde a década de 1930, uma azida do ácido nicotínico, foi experimentada para estimular os doentes de psicose maníaco-depressiva, num hospital para alienados de Baltimore, Estados Unidos. A surpresa foi que os doentes mentais também portadores de tuberculose foram curados. Mais um acaso na história da tuberculose (...)."

Os avanços da quimioterapia

"Com a quimioterapia surgiu uma nova etapa no tratamento da tuberculose. Antes morriam 60% dos tuberculosos, 20% ficavam crônicos, outros 20% curavam-se.

Com a quimioterapia, as mortes ficavam em menos de 10% e as curas chegavam a 70%. Mas houve, no início, um problema: os cirurgias ainda dominavam os sanatórios e resistiram muito à entrada da quimioterapia; muitos deles abominaram a estreptomicina, porque com ela perderiam o seu bom negócio de operar. Então o que fizeram. Propuseram que o tratamento fosse feito dentro de hospitais, nos três primeiros meses, e isso predominou durante muito tempo... Hospitais foram construídos no interior e surgiu um novo aparelho no combate à tuberculose, substituindo os antigos sanatórios, o dispensário! Agora o tuberculoso não precisava mais ser segregado, mas os hospitais deveriam ainda ter um papel importante (...).

A tuberculose é uma doença que se reativa, o bacilo é mutante e se desenvolve onde encontra baixa imunidade, em geral causada pela subnutrição. Um paradoxo é que, hoje, a doença cresce pela miséria, nos países subdesenvolvidos, e também pela longevidade conquistada pela qualidade de vida, nos países desenvolvidos. Porque o velho também tem menor resistência(...)."

Um sonho

"Em minha vida, eu produzi coisas que puderam colaborar com a sociedade e, graças a Deus, hoje posso alisar minha barriga... Não estou satisfeito, ainda quero produzir mais, quem sabe ajudar na erradicação da tuberculose."*

Correspondência/correspondence to:

Sylia Rehder
Av. Dr. Arnaldo, nº 351 – Cerqueira César
CEP: 01246-902 – São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3066-8825 – E-mail: sreher@saude.sp.gov.br

*Estas e outras histórias foram registradas por Fernando Fiuza de Melo no Museu da Pessoa, em www.museudapessoa.net.

Instruções aos Autores

Missão

O **Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa)** 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). Editado nos formatos impresso e eletrônico, documenta e divulga trabalhos relacionados a essas ações, de maneira rápida e precisa, estabelecendo canal de comunicação entre as diversas áreas do SUS-SP. Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde de maneira rápida e precisa, tem como objetivo incentivar a produção de trabalhos técnico-científicos desenvolvidos no âmbito da rede pública de saúde, proporcionando a atualização e, conseqüentemente, o aprimoramento dos profissionais e das instituições responsáveis pelos processos de prevenção e controle de doenças, nas esferas pública e privada.

Política editorial

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/>.

Após uma revisão inicial para avaliar se os autores atenderam aos padrões do Bepa, os trabalhos passam por processo de revisão por dois especialistas da área pertinente, sempre de instituições distintas daquela de origem do artigo, e cegos quanto à identidade e vínculo institucional dos autores. Após os pareceres, o Conselho Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do trabalho, avalia a aceitação do artigo sem modificações, a sua

recusa ou devolução ao autor com as sugestões apontadas pelo revisor.

Tipos de artigo

Artigos de pesquisa – Apresentam resultados originais provenientes de estudos sobre quaisquer aspectos da prevenção e controle de agravos e de promoção à saúde, desde que no escopo da epidemiologia, incluindo relatos de casos, de 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, e podem, ainda, ser replicados e/ou generalizados por todo o sistema (o que foi encontrado e o que a sua descoberta significa).

Revisão – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo os limites do tema. Os artigos desta seção incluem relatos de políticas de saúde pública ou relatos históricos baseados em pesquisa e análise de questões relativas a doenças emergentes ou reemergentes.

Comunicações rápidas – São relatos curtos destinados à rápida divulgação de eventos significativos no campo da vigilância à saúde. A sua publicação em versão impressa pode ser antecedida de divulgação em meio eletrônico.

Informe epidemiológico – Tem por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas públicos de informação sobre doenças e agravos e programas de prevenção ou eliminação de doenças infecto-contagiosas.

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 agravos.

Resumo – Serão aceitos resumos de teses e dissertações até um ano dois anos após a defesa.

Pelo Brasil – Deve apresentar a análise de um aspecto ou função específica da promoção à saúde, vigilância, prevenção e controle de agravos nos demais Estados brasileiros.

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.

Editoriais – São escritos por especialistas convidados a comentar artigos e tópicos especiais cobertos pelo Bepa.

Relatos de encontros – Devem focar o conteúdo do evento e não sua estrutura.

Cartas – As cartas permitem comentários sobre artigos veiculados no Bepa, e podem ser apresentadas a qualquer momento após a sua publicação.

OBS – Os informes técnicos, epidemiológico, Pelo Brasil, atualizações e relatos de encontros devem ser acompanhados de carta do diretor da instituição à qual o autor e o objeto do artigo estão vinculados. *Clique aqui* para ter acesso ao modelo.

Apresentação dos trabalhos

Ao trabalho deverá ser anexada uma carta de apresentação, assinada por todos os autores, dirigida ao Conselho 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 Helsink e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS), bem como registro dos estudos de ensaios clínicos em base de dados, conforme recomendação aos editores da Lilacs e Scielo, disponível em: <http://bvsmodelo.bvsalud.org/site/lilacs/homepage.htm>. O nome da base de dados, sigla e/ou número do ensaio clínico deverão ser colocados ao final do RESUMO.

O trabalho deverá ser redigido em Português do Brasil, com entrelinhamento duplo. O manuscrito deve ser encaminhado em formato eletrônico (e-mail, disquete ou CD-ROM) e impresso (folha A4), aos cuidados do Editor Científico do Bepa no seguinte endereço:

Boletim Epidemiológico Paulista

Av. Dr. Arnaldo, 351, 1º andar, sala 131
Cerqueira César – São Paulo/SP, Brasil
CEP: 01246-000
bepa@saude.sp.gov.br

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 (se houver); AGRADECIMENTOS; REFERÊNCIAS; e TABELAS, FIGURAS e FOTOGRAFIAS anexas, conforme ordem a seguir.

A íntegra das instruções aos autores quanto à categoria de artigos, processo de arbitragem, preparo de manuscritos e estrutura dos textos, entre outras informações, estão disponíveis no site: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa37_autor.htm.

