

Resultado da atuação do Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz – São José do Rio Preto – X, na implantação do teste rápido e Elisa para dengue NS1

Results of the actions performed by the Regional Laboratory Center of the Instituto Adolfo Lutz – São José do Rio Preto – X, in the implementation of rapid and Elisa tests for NS1 dengue

Margarida Georgina Bassi¹; Tânia Cristina Higino Estécio¹; Janaína Olher Martins Montanha¹; Denise Maria Bussoni Bertollo¹; Rodrigo Friozi Povinelli¹; Márcia Cristina Fernandes Prado Reina²; Iray Maria Rocco³; Ivete Aparecida Zago Castanheira de Almeida¹

¹Centro de Laboratório Regional. Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – CCD/SES-SP. São José do Rio Preto, SP, Brasil

²Grupo de Vigilância Epidemiológica XXIX de São José do Rio Preto – CCD/SES-SP. São Paulo, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São José do Rio Preto, SP, Brasil

³Instituto Adolfo Lutz – Laboratório Central São Paulo – CCD/SES-SP, SP, Brasil

RESUMO

O Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz – São José do Rio Preto – X participou da implantação do teste rápido e Elisa para detecção do antígeno NS1 na região do Departamento Regional de Saúde XV. Na execução técnica, utilizou kits BIO-RAD Dengue-NS1 Ag STRIP (teste rápido) e *panbio early para enzyme linked immuno sorbent assay* (Elisa-NS1), com informação imediata do resultado, por *e-mail*. As amostras reagentes para NS1 foram enviadas ao IAL Central-SP para isolamento de vírus. Entre março de 2009 e março de 2010, foram processadas 788 amostras pelo teste rápido e 9.270 por Elisa, com 166 (21,1%) e 4.439 (47,9%) amostras positivas, respectivamente. Foram identificados os sorotipos circulantes em 26 municípios, com 93,7% de positividade para o sorotipo 1. O número de amostras analisadas e a rapidez na informação dos resultados positivos contribuíram para agilização e ampliação das ações de controle da dengue.

Palavras-chave: Dengue. Epidemiologia. Diagnóstico laboratorial. NS1.

ABSTRACT

The Regional Laboratory Center of the Adolfo Lutz Institute - São José do Rio Preto - X (CLR-SJRP - X), located in the Regional Health Department XV area, participated in the implementation program of rapid and Elisa tests for the detection of NS1 antigen. Regarding technical implementation, BIO-RAD - Dengue NS1 Ag STRIP kit (rapid test) and Panbio Early for Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Elisa-NS1) were used, which results were immediately sent by e-mail. Reactive samples for NS1 were sent to Central IAL -SP for virus isolation. Between March 2009 and March 2011, 788 samples were analyzed by rapid test and 9,270 by Elisa, with 166 (25,7%) and 4,449 (47,9%) positive samples, respectively. Viral isolation was possible in 26 municipalities with 93,7% positives for serotype 1. The number of samples analyzed and the quick obtained results, contributed to optimize and expand dengue surveillance.

Key words. Dengue. Epidemiology. Laboratory diagnosis. NS1.

INTRODUÇÃO

Denomina-se dengue a enfermidade causada por um arbovírus da família Flaviviridae, gênero Flavivirus, que inclui quatro tipos imunológicos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. A infecção por um deles dá proteção permanente para o mesmo sorotipo e imunidade parcial e temporária contra os outros três.^{1,2} Atualmente, a dengue é a arbovirose mais comum que atinge o homem, sendo responsável por cerca de 100 milhões de casos/ano em população de risco de 2,5-3 bilhões de seres humanos.³ A febre hemorrágica da dengue (FHD) e a síndrome de choque da dengue (SCD) atingem pelo menos 500 mil pessoas/ano, apresentando taxa de mortalidade de até 10% para pacientes hospitalizados e 30% para os não tratados.⁴

No Brasil, existem registros de epidemias de dengue no Estado de São Paulo, que ocorreram nos anos de 1851/1853 e 1916 e no Rio de Janeiro, em 1923.⁵ Dessa época até o início da década de 1980 não se observaram novas ocorrências da doença em nosso meio. De novembro de 1981 a março de 1982, ocorreu a primeira epidemia documentada, clínica e laboratorialmente, na cidade de Boa Vista, Roraima, com circulação dos sorotipos 1 e 4.⁶ No período de 1986 a outubro de 1999, foram registrados no País 1.104.996 casos de dengue em 19 dos 27 Estados.¹ Até 1989, o sorotipo DEN-1 foi o responsável por epidemias e/ou surtos da doença no Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Ceará, Alagoas, Bahia e Pernambuco.⁷

No Estado de São Paulo, a dengue foi incluída no rol das doenças de notificação compulsória em 1986. Na região de Ribeirão Preto, a epidemia alcançou o pico em 1991, estendendo-se pelas regiões de São José do Rio Preto, Araçatuba e Bauru, confirmando as previsões de risco crescente de ocorrência da arbovirose.^{2,8} Em São José do Rio Preto ocorrem epidemias desde 1990, intercaladas com períodos inter-epidêmicos, sendo que em 1999 e 2001 foram muito expressivas, com 9.556 e 17.492 exames realizados de suspeitos de dengue, respectivamente.⁹ A partir de 1994, as epidemias têm apresentado maior vulto, espalhando-se por todas as regiões geográficas.⁷

Observa-se que a doença foi reconhecida há aproximadamente 200 anos e tem apresentado caráter epidêmico e endêmico variado, tendendo a agravar-se nos últimos anos.⁴ Diversos fatores se combinaram para produzir condições epidemiológicas nos países em desenvolvimento em regiões tropicais e subtropicais, favorecendo a transmissão viral pelo principal mosquito vetor, o *Aedes aegypti*: rápido crescimento da população, migração rural-urbana, insuficiência de infraestrutura urbana básica e aumento no volume de resíduos sólidos que proporcionam *habitat* larval em zonas urbanas.¹⁰

No início de 2009, a Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo (SES-SP) lançou a “Proposta de implantação da técnica de NS1 como fator de agilização da interrupção da transmissão da dengue” para execução, na rede de laboratórios do Instituto Adolfo Lutz (IAL) – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) – e laboratórios municipais credenciados, do teste rápido e Elisa para detecção do antígeno NS1. O antígeno NS1 é uma

proteína não estrutural reconhecida como marcador da fase aguda da infecção pelo vírus da dengue, período em que os métodos sorológicos baseados na detecção de anticorpos são de valor limitado.¹¹ Esse plano de ação considerou os desafios atuais de controle da doença, baseados na tendência de aumento das formas graves e óbitos por dengue, mudança do padrão etário da doença e possível reemergência do sorotipo DEN-2. Teve como finalidade detectar e controlar precocemente epidemias, melhorar o atendimento clínico aos suspeitos de dengue e diminuir a letalidade da doença.

OBJETIVO

Apresentar as ações desenvolvidas pelo Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto – X (CLR – SJRP X), de forma articulada com os Grupos de Vigilância Epidemiológica de São José do Rio Preto (GVE XXIX) e de Jales (GVEXXX), vigilâncias epidemiológicas municipais e Superintendência de Controle de Endemias (Sucen/SES-SP), na implantação do teste rápido e Elisa para NS1 e os resultados obtidos.

METODOLOGIA

A região de abrangência das ações do CLR – SJRP X é a compreendida pelo Departamento Regional de Saúde de São José do Rio Preto (DRS XV), que se localiza a Noroeste do Estado de São Paulo, com área geográfica de 24.496 km² e 1.480.128 habitantes (dados do DRS XV). É composta por 101 municípios, dos quais 66 pertencentes ao GVE XXIX, cuja sede é em São José do Rio Preto, e 35 ao GVE XXX, com sede em Jales.

A partir de 23 de fevereiro de 2009, atendendo sua missão no cumprimento da

proposta da SES-SP de implantação da sorologia para o NS1, o CLR – SJRP X teve como meta inicial o atendimento de 100% da demanda de exames dos municípios da área do DRS XV, com avaliações periódicas das suas necessidades. Para tanto, foram estabelecidas etapas para seu desenvolvimento, com o levantamento das necessidades nos municípios, considerando a capacidade instalada e a produção existente na rede, descritas a seguir.

- Organização de reuniões junto aos GVE regionais para treinamentos dos profissionais envolvidos nas ações de prevenção, tratamento e controle da doença. Coube ao CLR – SJRP X a apresentação, em aulas expositivas, das metodologias para detecção do NS1 (teste rápido e Elisa) e das instruções de coleta, acondicionamento e transporte das amostras e definição do fluxo dos resultados.
- Preparação do material de apoio pelo CLR – SJRP X e distribuição aos municípios e GVE, com elaboração de modelo específico para solicitação do teste NS1 (Anexo 1), contemplando as informações necessárias para cadastramento das amostras no Sistema de Informação e Gestão Hospitalar (SIGH) do CLR – SJRP X.
- Preparação dos profissionais das equipes multisectoriais do CLR – SJRP X quanto à organização do fluxo de recebimento de amostras, com elaboração de escala de plantões em finais de semana e feriados e, ainda, capacitação dos profissionais técnicos do Núcleo de Ciências Biomédicas do CLR – SJRP X, para execução das técnicas, de acordo com as metodologias preconizadas pelos fabricantes dos *kits* comerciais.
- Execução dos testes para detecção do antígeno NS1 no CLR – SJRP X, com início da parte prática da implantação em 2 de março de 2009. Foram utilizados para os testes de presença do antígeno os *kits* BIO-RAD Dengue-NS1 Ag STRIP e BIOESY (teste rápido) e o *panbio early para enzyme linked immuno sorbent assay* (Elisa-NS1). Os exames foram realizados de segunda-feira a sábado, com liberação do resultado em 24-48h, no máximo, a fim de agilizar as medidas de controle da transmissão e melhorar o manejo clínico desses pacientes, conforme preconiza a proposta da SES-SP. As amostras de sangue foram coletadas até o terceiro dia do início dos sintomas de indivíduos que atendiam à definição de caso suspeito de dengue. Para pesquisa de anticorpos IgM, nas amostras coletadas após o sexto dia do início dos sintomas, o *kit* utilizado foi o *panbio para enzyme linked immuno sorbent assay* e BIO-RAD (Elisa – IgM).
- Informação dos resultados imediatamente, por *e-mail*, para as instituições solicitantes, com cadastro diário no SIGH para emissão e acesso dos resultados pelos GVE, por meio do sistema de informação.
- Encaminhamento de todas as amostras reagentes para o NS1 ao IAL – Central, São Paulo, SP, para

isolamento viral e identificação do sorotipo circulante na região.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de março de 2009 a março de 2010, 59 (71,2%) municípios da região do GVE XXIX e 13 (15,8%) da região do GVE XXX coletaram amostras de sangue para pesquisa do NS1 e as encaminharam ao CLR – SJRP X (Tabela 1). Segundo a técnica utilizada, 788 amostras foram testadas pelo teste rápido e 9.270 por Elisa, com 166 (21,1%) e 4.439 (47,9%) amostras positivas, respectivamente. Ressalta-se que a seleção para utilização da técnica foi baseada no número de amostras a serem analisadas, naquele momento, para melhor aproveitamento dos testes. Foram também analisadas 12.429 amostras com solicitação de Elisa IgM, procedentes de 99 municípios, que resultaram em 7.159 (57,6%) amostras positivas.

Esses números mostram maior adesão dos municípios do GVE XXIX à proposta da SES-SP, motivada possivelmente pelos recursos e apoio das instituições responsáveis pela implantação, proximidade geográfica do CLR-X, facilitando assim o transporte rápido e em finais de semana, e por constituir uma área com maior densidade demográfica, consequentemente com maior número de suspeitos.

Conforme definido com o serviço de vigilância epidemiológica, quando havia critério para o teste NS1, foi utilizada a ficha de solicitação específica e os demais procedimentos não foram alterados, sendo aplicados de acordo com o protocolo de atendimento dos suspeitos de dengue, já estabelecido nos anos anteriores pela SES-SP, quanto à notificação, investigação e solicitação do teste Elisa IgM para coleta a partir do sexto dia de início dos sintomas. Nos casos de NS1 com resultados negativos, os pacientes suspeitos foram orientados a retornar ao serviço de saúde para nova coleta de sangue, para investigação da presença de anticorpos IgM contra o vírus da dengue.

Foi possível a identificação dos sorotipos circulantes em 382 (89,8%) das 425 amostras procedentes de 26 (25,7%) municípios. No período estudado, houve predomínio do sorotipo 1, com 93,7% dos isolamentos (Tabela 2). Os municípios com transmissão e a distribuição dos sorotipos isolados estão demonstrados na Figura 1. Foi observado também alto índice de concordância (89,8%) entre os resultados reagentes para NS1 e os de isolamento viral. Além da abrangência da área estudada, é importante ressaltar o número de amostras coletadas para isolamento de vírus e o percentual de positividade em relação aos anos anteriores (Figura 2). Tal

Tabela 1. Número e percentual de municípios com coleta e positividade para o NS1, distribuído por GVE, no período de março de 2009 a março de 2010.

Distribuição	Total de municípios		Municípios com coleta		Municípios sem coleta		Resultados reagentes		Resultados não reagentes	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
GVE XXIX	66		59	71,2	7	24,1	4561	99,0	5249	98,5
GVE XXX	35		13	15,8	22	75,9	44	1,0	79	1,5
TOTAL	101		82	81,3	29	28,7	4605	100	5328	100

Fonte: IAL-SIGH

resultado, possivelmente, se deve à coleta oportuna das amostras no período apropriado, coincidente com o do NS1, o que talvez não tenha ocorrido nos anos anteriores, além do fluxo bem estabelecido entre o CLR-X e IAL Central.

Tabela 2. Isolamento viral para dengue, nos municípios do DRS XV, no período de março de 2009 a março de 2010.

Municípios	Dengue 1	Dengue 2	Dengue 3	Total
Bady Bassitt	22			22
Cedral	2			2
Fernandópolis	8			8
Icem			3	3
Ipiguá	7			7
Jales	1			1
José Bonifácio	1			1
Magda	4			4
Mirassol	11			11
Mirassolândia	1			1
Monções	1			1
Neves Paulista	1	1		2
Nova Aliança	1	1		2
Orindiúva	3			3
Palestina	1			1
Palmares Paulista			1	1
Pedranópolis	1			1
Pontalinda	1			1
Potirendaba	5			5
Riolândia	7			7
Santa Fé do Sul		2	3	5
São José do Rio Preto	182	7	6	195
Tanabi	39			39
Uchoa	1			1
Valentim Gentil	1			1
Votuporanga	57			57
Total	358	11	13	382

Fonte: IAL-SIGH

O conhecimento do sorotipo circulante prevalente é um importante sinalizador do comportamento da ocorrência e transmissão da dengue. Observa-se o retorno da prevalência do sorotipo 1, evidenciado também na epidemia de 1999, e a circulação simultânea dos sorotipos 2 e 3. O sorotipo 3 começou a circular a partir de 2001, com detecção de casos autóctones em 2002 em Catanduva (GVE XXIX),⁹ o qual apresenta sintomatologia mais grave,

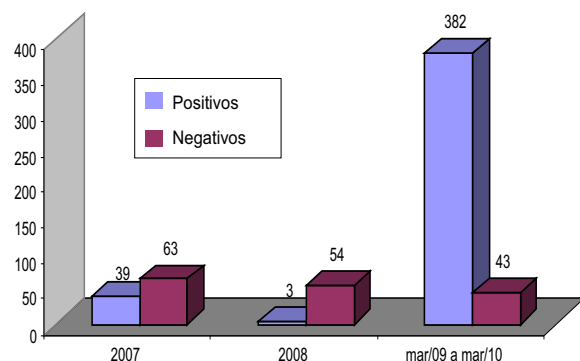
sugerindo maior virulência deste sorotipo. A circulação do sorotipo 3 é um fator preocupante, justificado pela alta susceptibilidade da população a este novo sorotipo, ocorrência de infecções prévias pelo sorotipo 1 ou 2 e a virulência da cepa, o que pode aumentar a dimensão da epidemia e sua gravidade.¹²

GVE XXX



Fonte: DRS XV/IAL-SIGH

Figura 1. Distribuição de sorotipos de dengue 1, 2 e 3, nos GVE XXIX e XXX, segundo município de ocorrência e com transmissão, de março de 2009 a março de 2010.



Fonte: IAL Central/SIGH

Figura 2. Distribuição de amostras com realização de isolamento viral para dengue, oriundas da região do GVE XXIX e GVE XXX, de 2007 a março/2010.

CONCLUSÃO

Analisando os aspectos positivos da implantação do teste NS1 na região, durante o período estudado, destaca-se a

diminuição do tempo de retorno do resultado, o que representa um fator importante para o paciente, médico assistente, vigilância epidemiológica e para as ações de controle dos vetores, incluindo neste tópico as ações de prevenção na mobilização social, técnica e política.

Considerando as justificativas da proposta de implantação da SES-SP, de agilida-

de na confirmação de dengue para interrupção precoce da transmissão e o aprimoramento do manejo clínico dos casos suspeitos, pode-se concluir que o CLR - SJRP forneceu subsídios para concretização, por parte dos municípios, desses objetivos, quando se considera o volume de amostras coletadas e analisadas, com qualidade, e os resultados liberados, prontamente.

REFERÊNCIAS

1. Borges SMAA. Importância epidemiológica do *Aedes albopictus* nas Américas [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2001.
2. Pontes RJS, Ruffino-Netto A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. Rev Saúde Pública. 1994;28(3):218-27.
3. World Health Organization - WHO. Dengue haemorrhagic fever - diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: WHO; 1997.
4. Holmes EC, Bartley LM, Garnet GP. The emergence of dengue past, present and future In: Krause RM, editor. Emerging infectors. London: Academic Press; 1998. p. 301-25.
5. Fraiha H. Reinfestação do Brasil pelo *Aedes aegypti*. Considerações sobre o risco de urbanização do vírus da febre amarela silvestre na região reinfestada. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1968;10(5):289-94.
6. Osanai CH. A epidemia de dengue em Boa Vista, território federal de Roraima, 1981-1982 [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 1984.
7. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Divisão de Zoonoses. Informe técnico: Dengue, 2002. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/zoo/dengue_inf2103.htm.
8. Costa AIP. Identificação de unidades ambientais urbanas como condicionantes da ocorrência de *Aedes aegypti* (Diptera Culicidae) e de dengue na cidade de São José do Rio Preto, SP, em 1995 [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1995.
9. Maia MICE, Pagliusi RA, Estécio TCH, Santos ACD, Akita MC, Menezes AC. Estudo do comportamento sorológico de dengue na região de São José do Rio Preto-SP, no período de janeiro de 1999 a julho de 2003. Bol Inst Adolfo Lutz. Ano 13, n.3, p. 3-32, 2003:30.
10. World Health Organization - WHO. 2005. Epidemic and pandemic alert and response: impact of dengue. World Health Organization, Geneva, Switzerland. [online]. Disponível em: <http://>

www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html.

11. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, Flamand M. 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.
12. Passos MNP, Santos LMJG, Pereira MRR, Casali CG, Fortes BPMD, Valencia LIO et al. Diferenças clínicas observadas em pacientes com dengue causadas por diferentes sorotipos na epidemia de 2001/2002, ocorrida no município do Rio de Janeiro. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2004;37(4):293-5.

Correspondência/correspondence to:

Ivete Aparecida Zago Castanheira de Almeida
Rua Alberto Sufredine Bertoni, 2325 – Maceno
CEP: 15060-020 – São José do Rio Preto/SP – Brasil
Tel.: 55 17 3224-2602
E-mail: iazcalmeida@ial.sp.gov.br

ANEXO I

Secretaria Municipal de Saúde do Município de:			
<p>Solicitação Teste sorológico de detecção da proteína NS1 (DENGUE) OBS: Coleta somente para pacientes com sintomas entre 1º e 3º dias</p>			
Nome da unidade:	CNES:		
Nome do paciente:			
Data dos 1º sintomas:	Coleta: / / Ho ra: :		
Pront. Nº:			
CNS:	SINAN:		
Data de Nascimento: / /	Vacina F Amarela: ()Sim ()Não		
Sexo: <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">M</td></tr></table> <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">F</td></tr></table>	M	F	Gestante: ()Sim ()Não
M			
F			
Endereço:			
Nº:	Bairro:		
Município de Residência:	Estado:		
<p>_____</p> <p>Assinatura e carimbo do profissional solicitante</p>			
<p>O EXAME SÓ SERÁ REALIZADO SE A SOLICITAÇÃO ESTIVER COMPLETAMENTE PREENCHIDA E LEGÍVEL</p>			
Instituto Adolfo Lutz	Recebimento no IAL: / / Hora: :		
Rua: Alberto Sufredini Bertoni, 2325	Funcionário:		