

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DE PERNAMBUCO
SECRETARIA EXECUTIVA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DIRETORIA GERAL DE LABORATÓRIOS PÚBLICOS – LACEN - PE

Diagnóstico do SARS- CoV-2 na Vigilância Laboratorial dos Vírus Respiratórios

Jurandy Jr. Ferraz de Magalhães, MSc.

Biomédico - CRBM - 4344

Professor - Universidade de Pernambuco (*UPE*) -Campus Serra Talhada

Analista em Saúde - Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral
(LACEN PE) - Divisão de Virologia

Doutorando em Biociências e Biotecnologia em Saúde - Instituto Aggeu Magalhães



Outubro, 2020



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE





Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE



Como foram as pandemias passadas ?



Credit: US National Museum of Health e Medicine

1918: Gripe espanhola
A(H1N1)

20-40 milhões mortes



1957: Gripe asiática
A(H2N2)

1-4 milhões mortes



1968: Hong Kong
A(H3N2)

1 milhão mortes



1918-1920- “Gripe Espanhola”



National Museum of Health and Medicine, Armed Forces Institute of Pathology

H1N1 - > 30 milhões de mortes, virulência?
-Taunbenberger 2005, *Nature*: vírus aviário

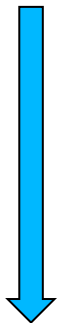


Pandemia H1N1 2009

- **24 Fev** – paciente 0 , criança norte Mexico
- **2 Abril** -morte 3 crianças “Granja Carroll” – Perote – fazenda americana México
- **16 de Abril** – novos casos , pneumonia, óbitos México
- casos Califórnia- 2 crianças - sem epidemiologia contato com suínos
- **11/06** –OMS –declaração da **Pandemia**
- **20/09** – OMS - > 3917 mortes, > 160 paises

COVID-19

01/12/2019



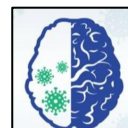
11/03/2020





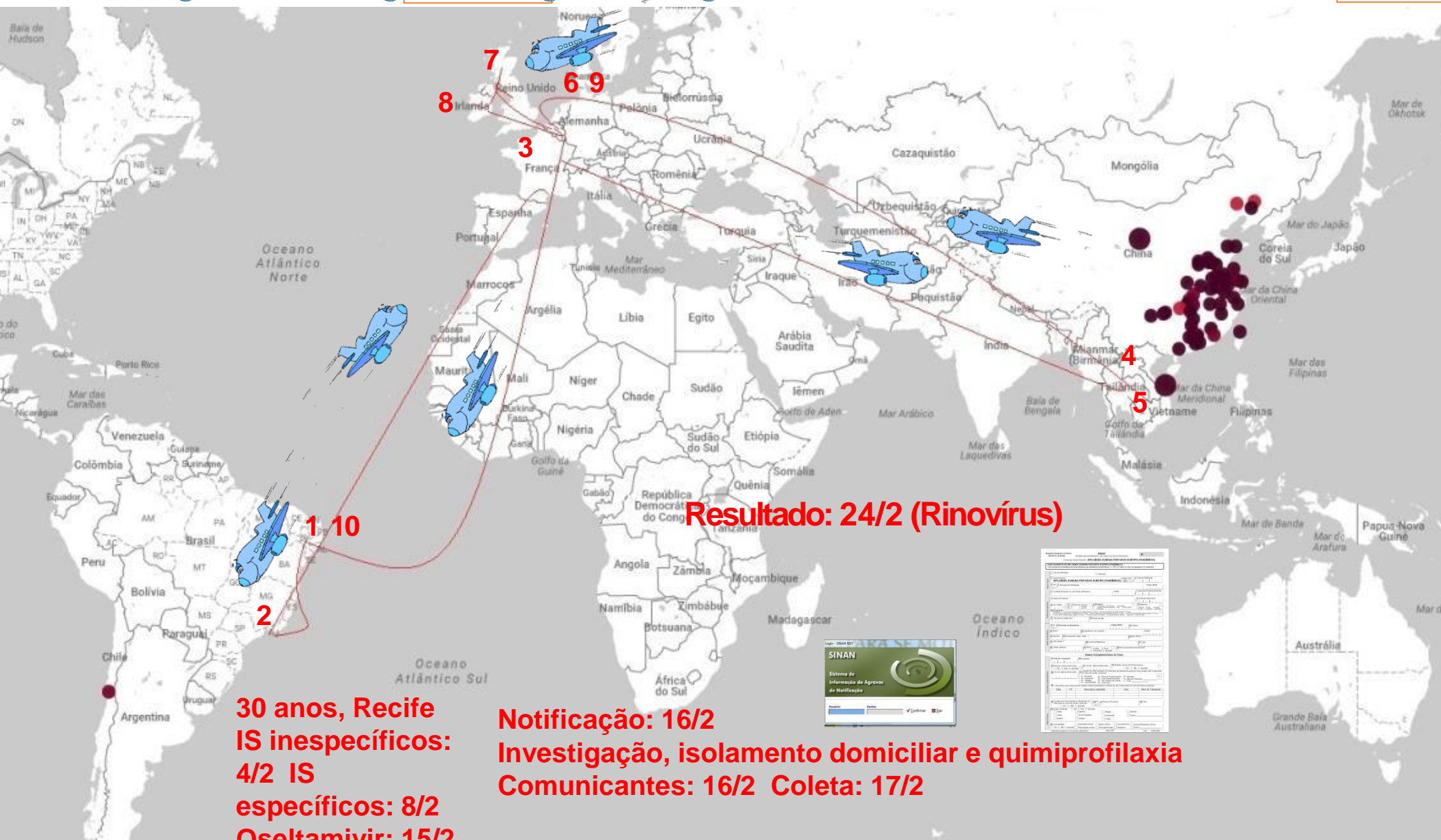


Eventos Inusitados



Caso Suspeito de Influenza por Novo Subtipo – Recife/PE

Trajeto de Viagem



Caso Suspeito de MERS – CoV - Recife/PE

Trajeto de Viagem

Recife /SP/Dubai
3/2/17 (1-2-3)



Dubai
4/2/17 (3)



Abu Dhabi e Catar 4 a
10/2/17 (4) MERS-CoV

Dubai 10/2/17 (5)

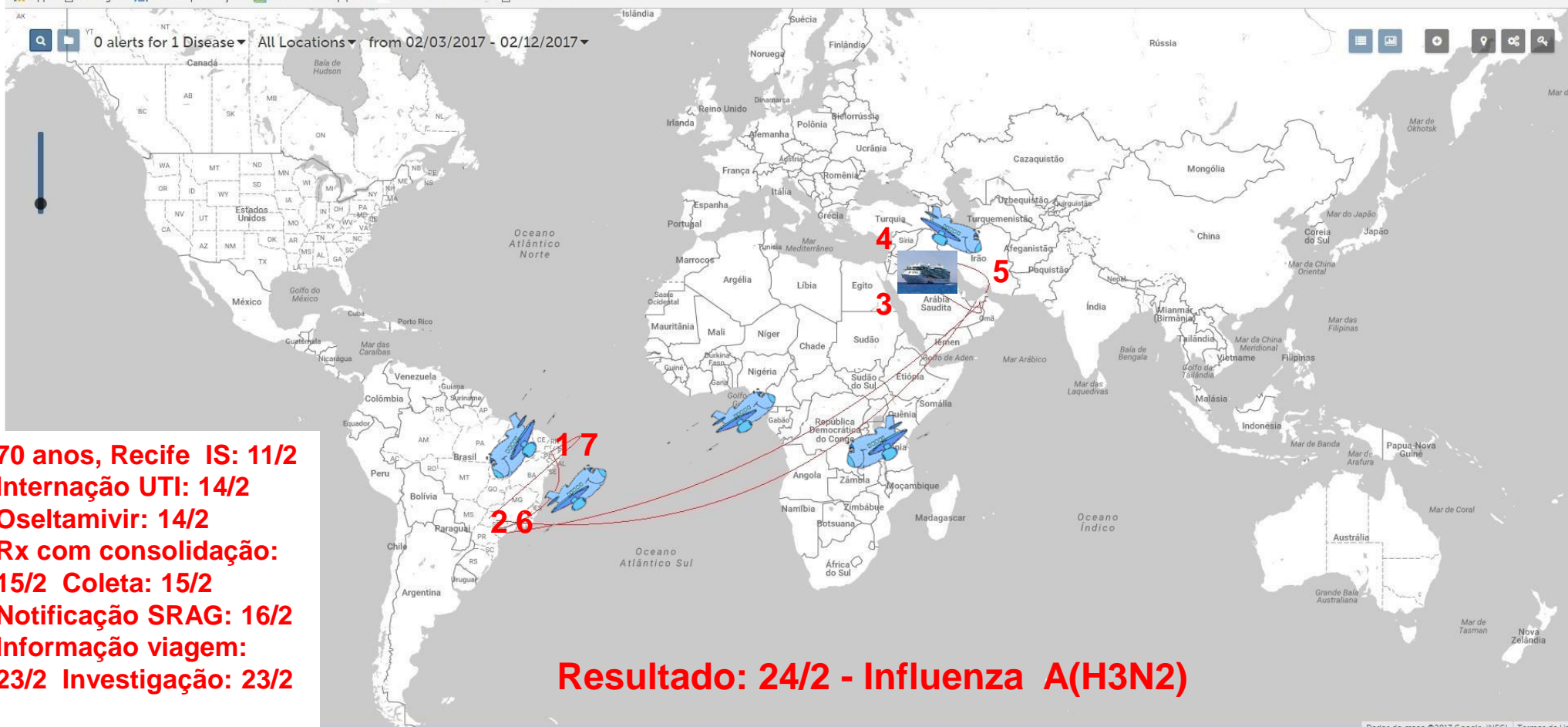


Dubai/SP 11/2/17
(5-6)



SP/Recife 12/2/17
(6-7)

Apps Nova guia CievS PE | DETECÇÃO Flu & Ebola Map | Vir... 2017: OIE - World Org SIVEP-GRIPE



70 anos, Recife IS: 11/2
Internação UTI: 14/2
Oseltamivir: 14/2
Rx com consolidação:
15/2 Coleta: 15/2
Notificação SRAG: 16/2
Informação viagem:
23/2 Investigação: 23/2

Resultado: 24/2 - Influenza A(H3N2)

Angioplastia: 2/3 Alta
hospitalar: 6/3

Telefone celular Projetos Disease Daily

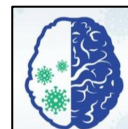
Conecte-se



PT 14:28 06/03/2017



Como é feita coleta e qual tipo de amostra biológica é testada?

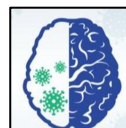


Coleta de amostras para diagnóstico laboratorial

- Até 07 dias do aparecimento dos primeiros sintomas
- 14 dias para crianças e pacientes imunossuprimidos;
- Swab de Rayon combinado (nasal/ oral);
- Não pode ser utilizado swab de algodão



Swab de Rayon



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE





Coleta de *Swab* Nasofaringe / Orofaringe Combinado



Swab Nasal

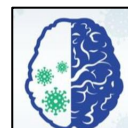


Swab Orofaringe





3 Swabs
no mesmo
tubo



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE

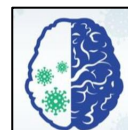


GOVERNO DO ESTADO
Pernambuco



Indicação de Coleta de Amostras em Situação de Óbito

- Até 12 horas após a morte
- Coleta swab combinado
- Espécimes teciduais:
 - coleta de 8 fragmentos (1 a 3 cm)
 - Brônquios, pulmão e traqueia



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE





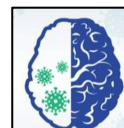
Como fica a vigilância com a introdução de um novo vírus?



Além da vigilância dos vírus influenza, quais outros vírus são pesquisados?

- Adenovírus humano (HAdV)
- Bocavírus humano (HBoV)
- Coronavírus humano 229E (Cor229)
- Coronavírus humano HKU1 (HKU)
- Coronavírus humano NL63 (Cor63)
- Coronavírus humano OC43 (Cor43)
- Enterovírus (EV)
- Metapneumovírus humano A (HMPVA)
- Metapneumovírus humano B (HMPVB)
- Parechovírus humano (HPeV)

- Rinovírus humano (RV)
- Parainfluenza humano 1 (HPIV1)
- Parainfluenza humano 2
- (HPIV2) Parainfluenza humano 3
- (HPIV3) Parainfluenza humano 4
- (HPIV4) Vírus sincicial respiratório A
- (HRSVA) Vírus sincicial respiratório B
- (HRSVB)



➤ Família Coronaviridae;

➤ 4 gêneros: α , β , γ e δ

Common cold
coronaviruses

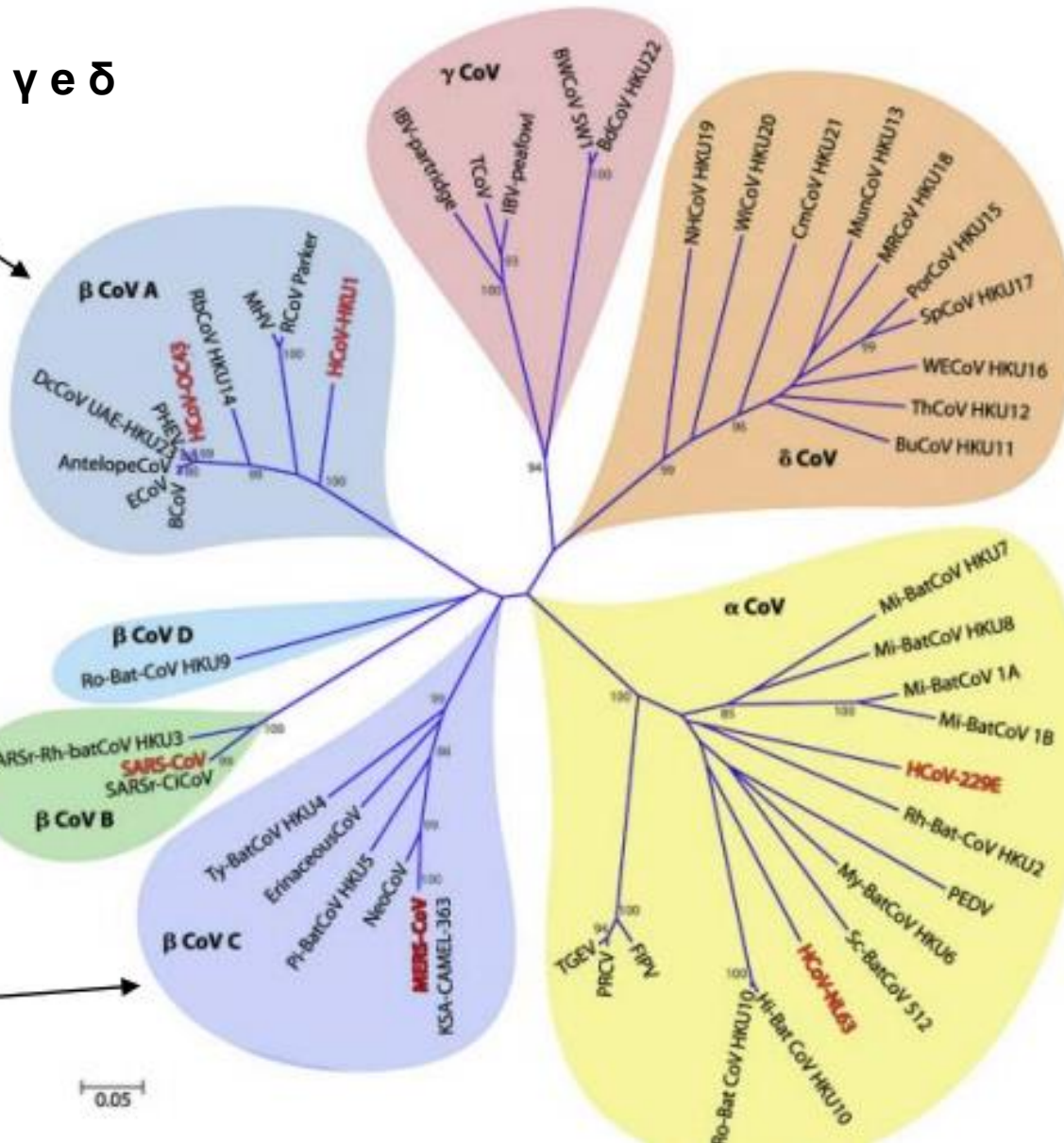
SARS-CoV
SARS-CoV-2



MERS-CoV

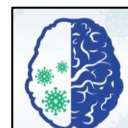
Common cold
coronaviruses

0.05





Como a COVID-19 chegou e se estabeleceu em PE?



Received 30 June 2020, Revised 17 September 2020, Accepted 18 September 2020, **Available online 21 September 2020.**

Travel Medicine and Infectious Disease 38 (2020) 101884



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Travel Medicine and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tmaid



Original article

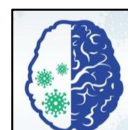
Epidemiological and clinical characteristics of the first 557 successive patients with COVID-19 in Pernambuco state, Northeast Brazil

Jurandy Júnior Ferraz de Magalhães ^{a,b,c,1}, Renata Pessoa Germano Mendes ^{a,1},
Caroline Targino Alves da Silva ^a, Severino Jefferson Ribeiro da Silva ^a,
Klarissa Miranda Guarines ^a, Lindomar Pena ^{a,*}, Others for the Pernambuco COVID-19 Research Group

^a Department of Virology, Aggeu Magalhães Institute (IAM), Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil

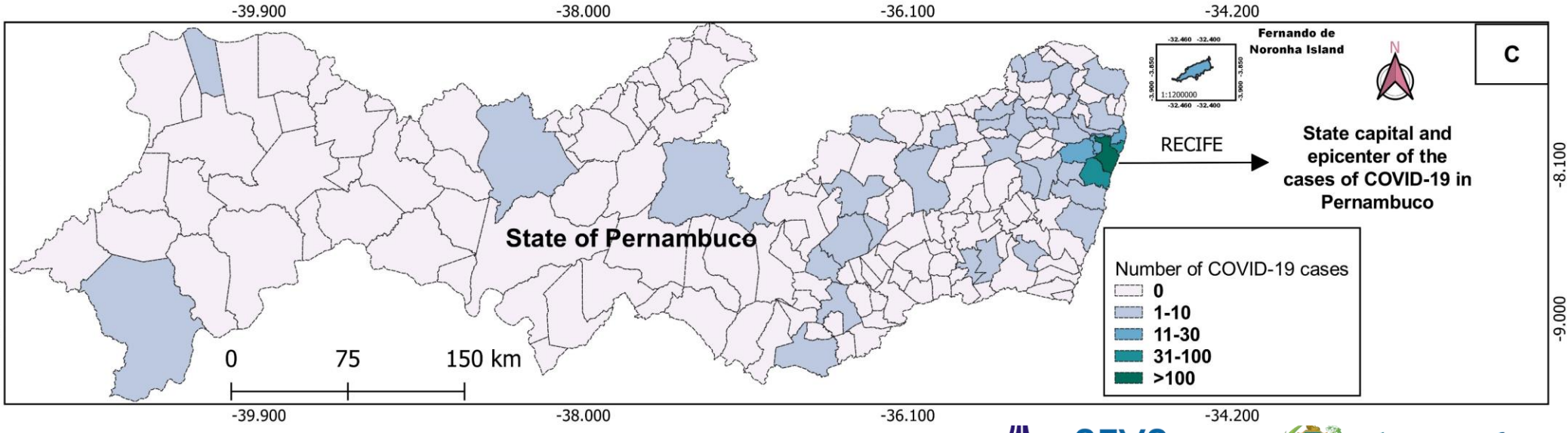
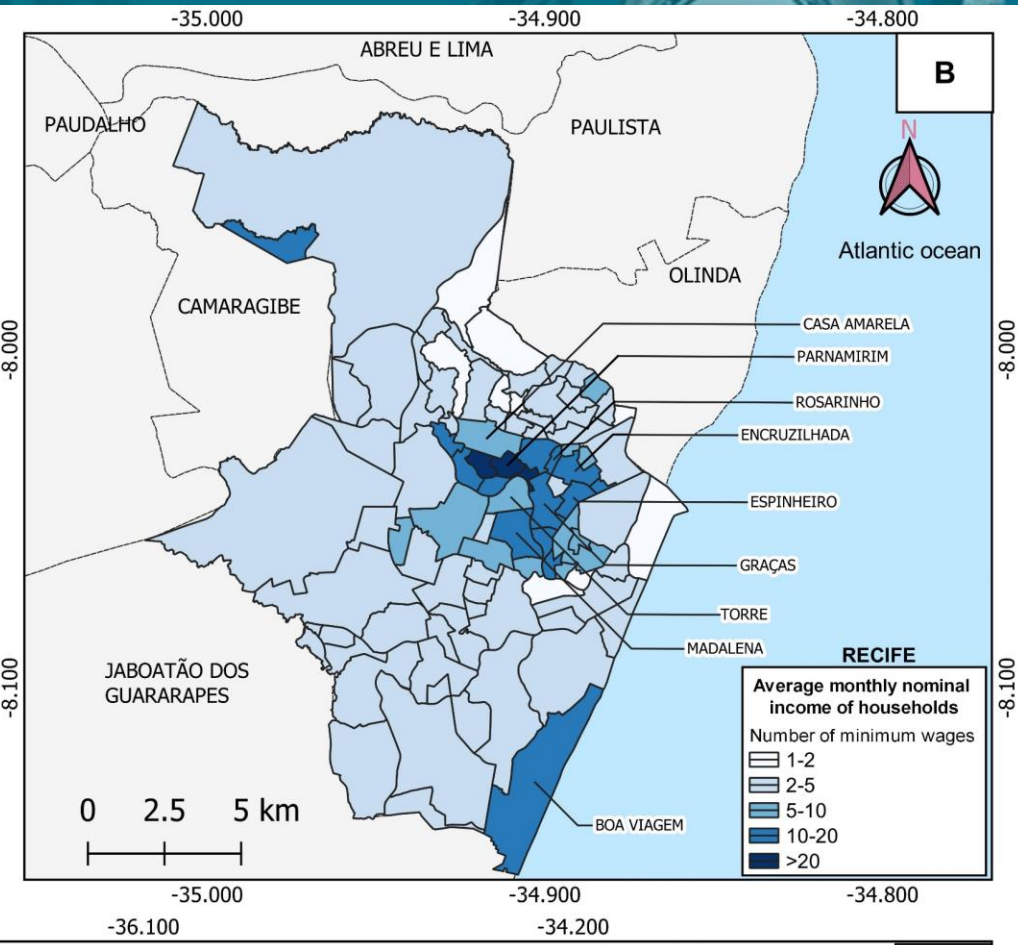
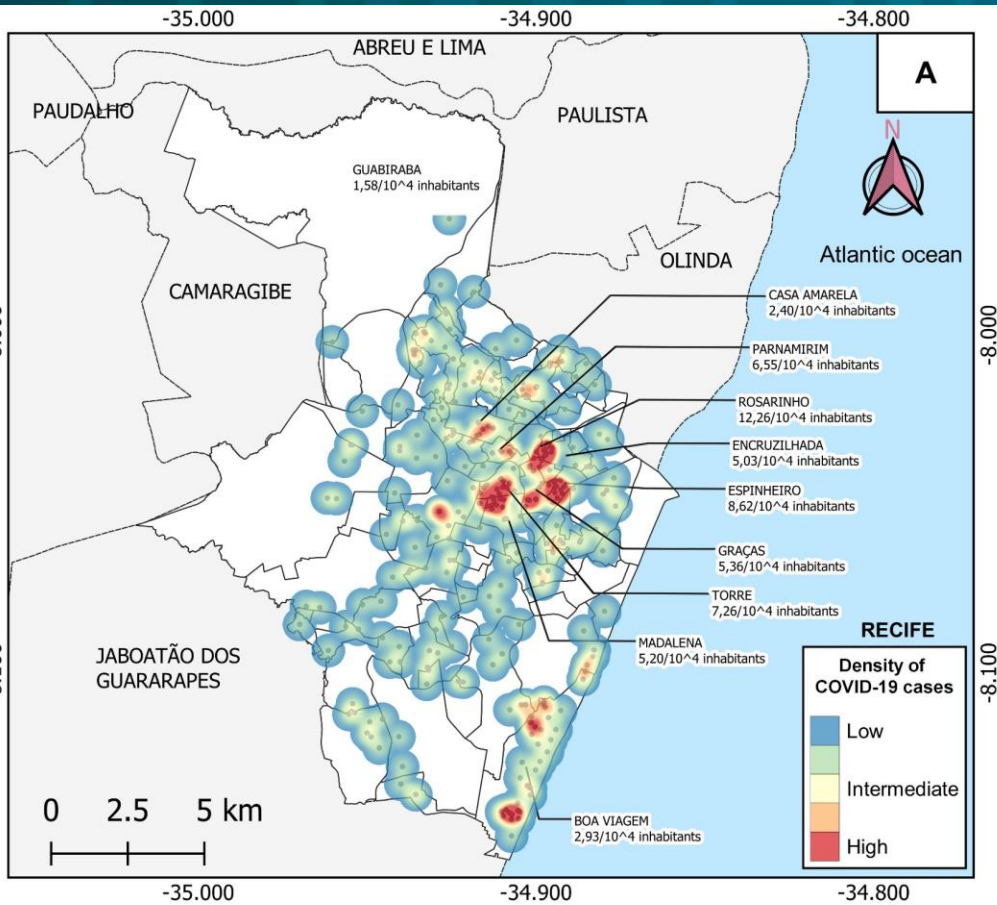
^b Department of Virology, Pernambuco State Central Laboratory (LACEN/PE), Recife, Pernambuco, Brazil

^c University of Pernambuco (UPE), Serra Talhada Campus, Serra Talhada, Pernambuco, Brazil



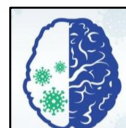
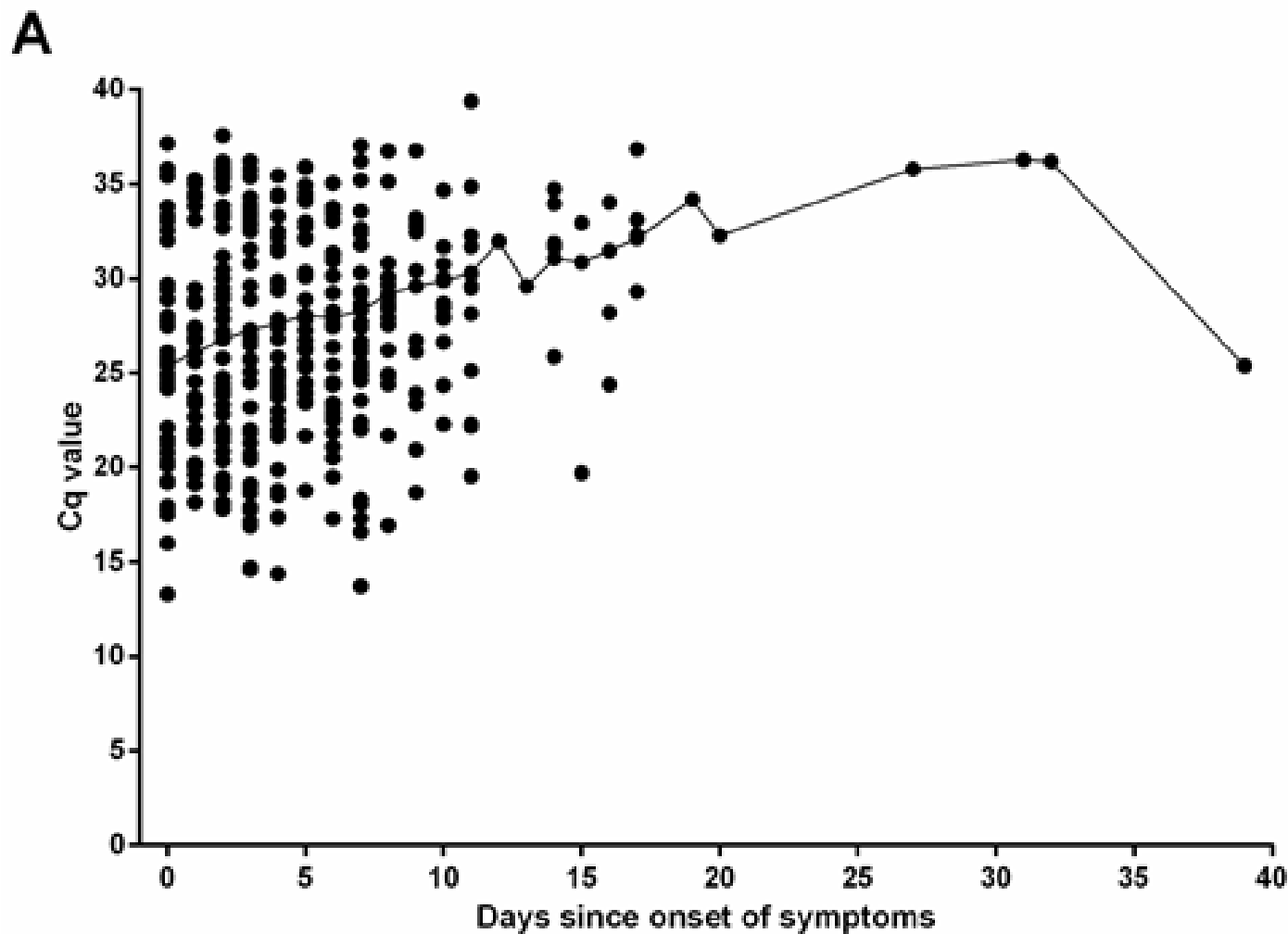
SECRETARIA DE SAÚDE





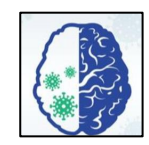
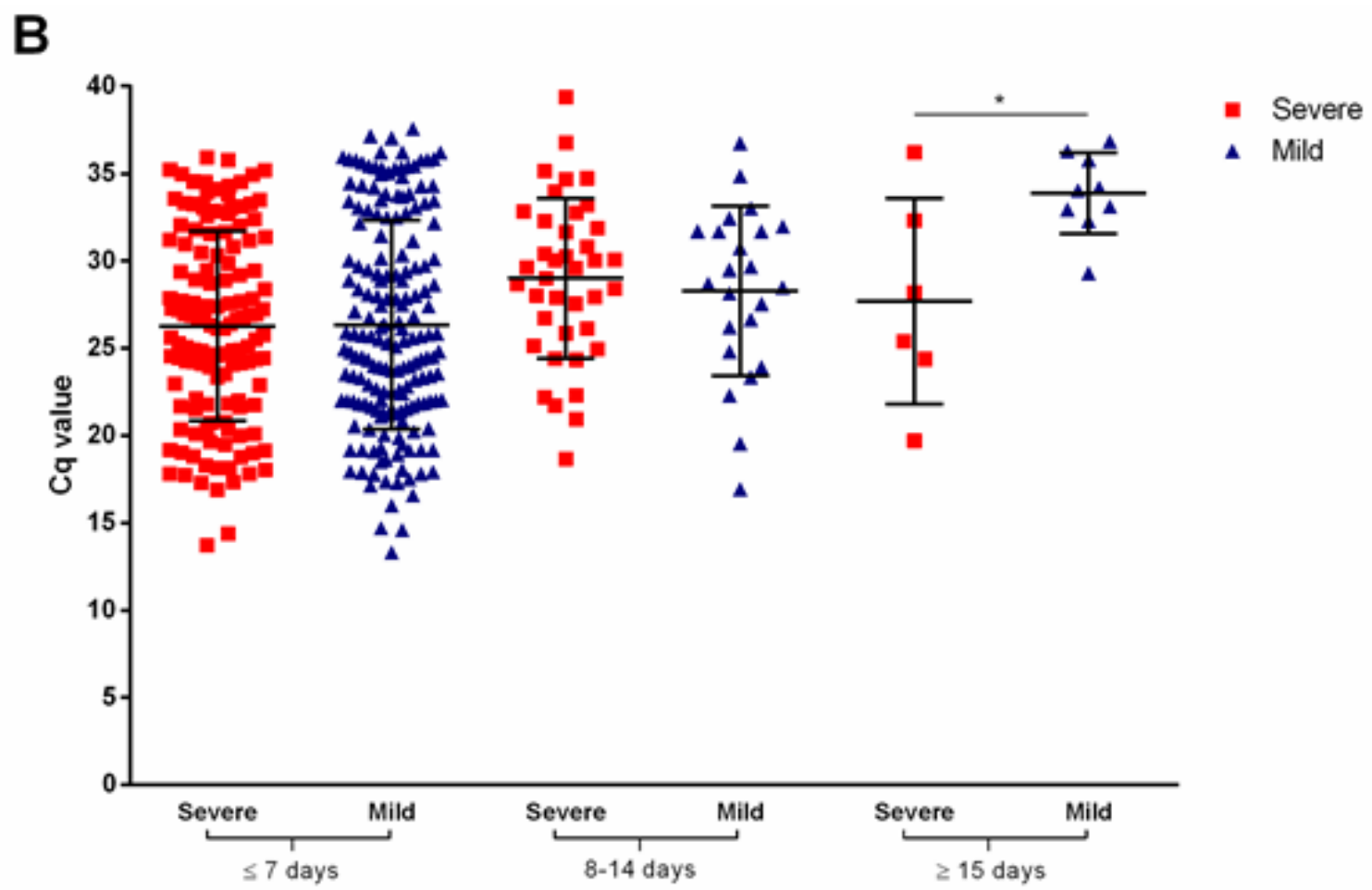


Dias de sintomas x Cq/Ct





Inferencia de carga viral: Casos leves x Casos graves





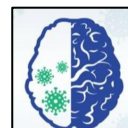
Metodologias usadas para detecção da infecção por Vírus Respiratórios

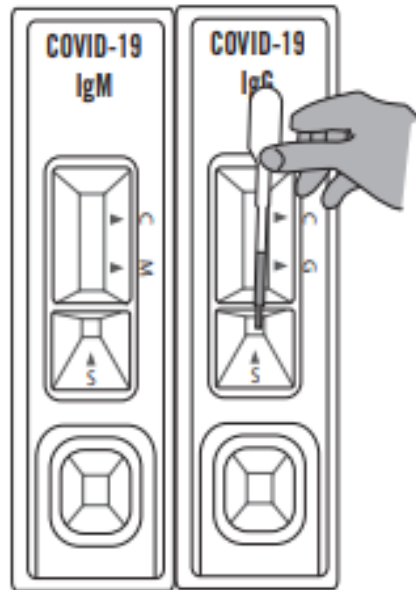




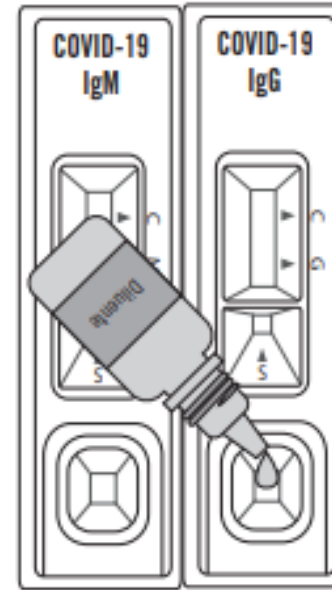
TESTES RÁPIDOS

Detecção de IgM/IgG





Aplicar 10µL da amostra na Cavidade da Amostra



Aplicar 3 gotas do diluente da amostra na cavidade do diluente

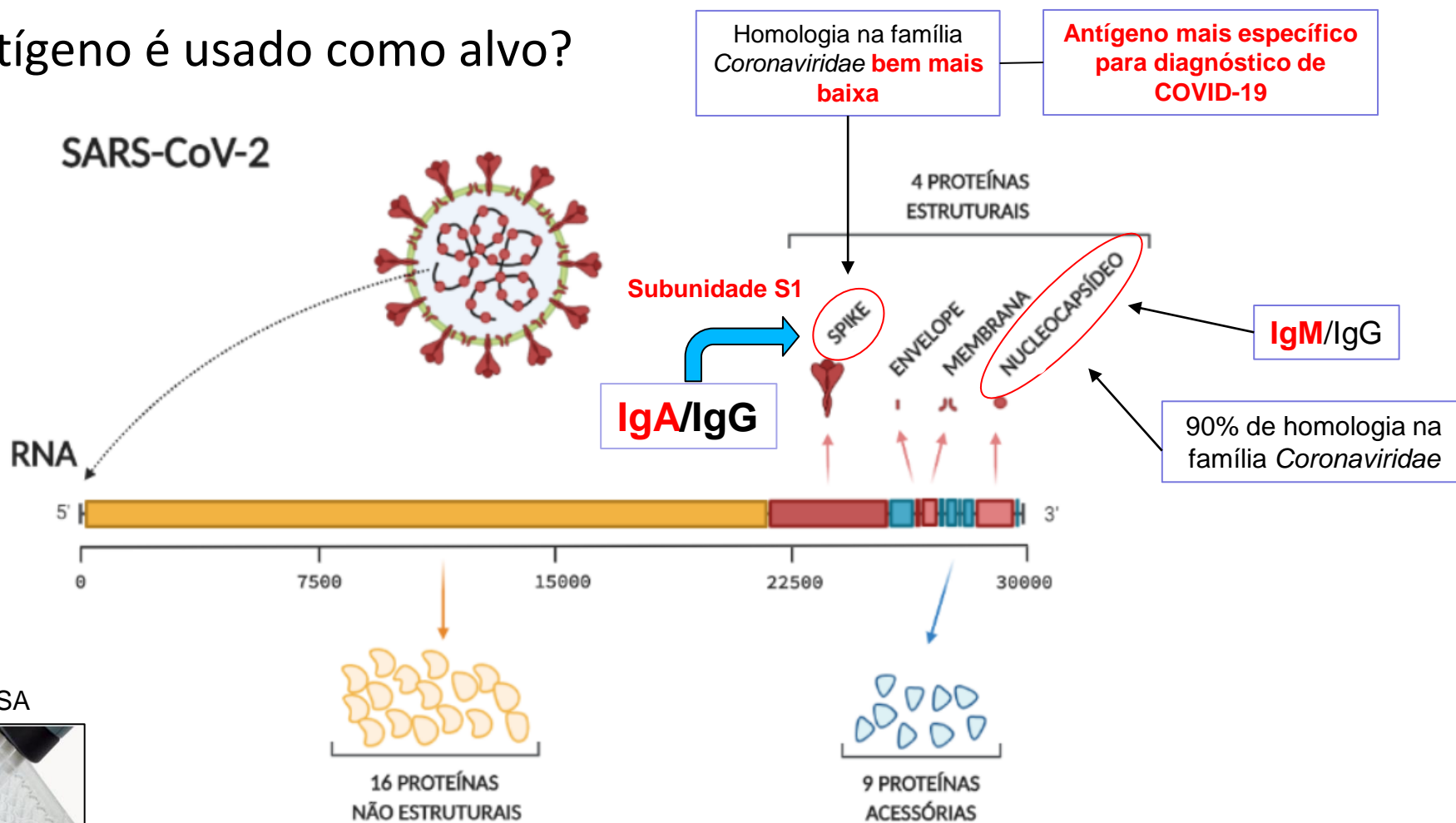
Principais limitações:

- 1 – Sensibilidade baixa (~86%);
- 2 – Especificidade questionável – Reação cruzada com outros Coronavírus de resfriado comum da maioria dos fabricantes;

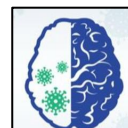
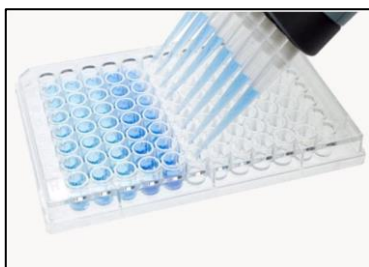


Testes baseados em ensaios imunoenzimáticos (ELISA)

- Qual antígeno é usado como alvo?



Ensaio de ELISA

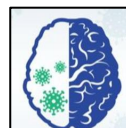
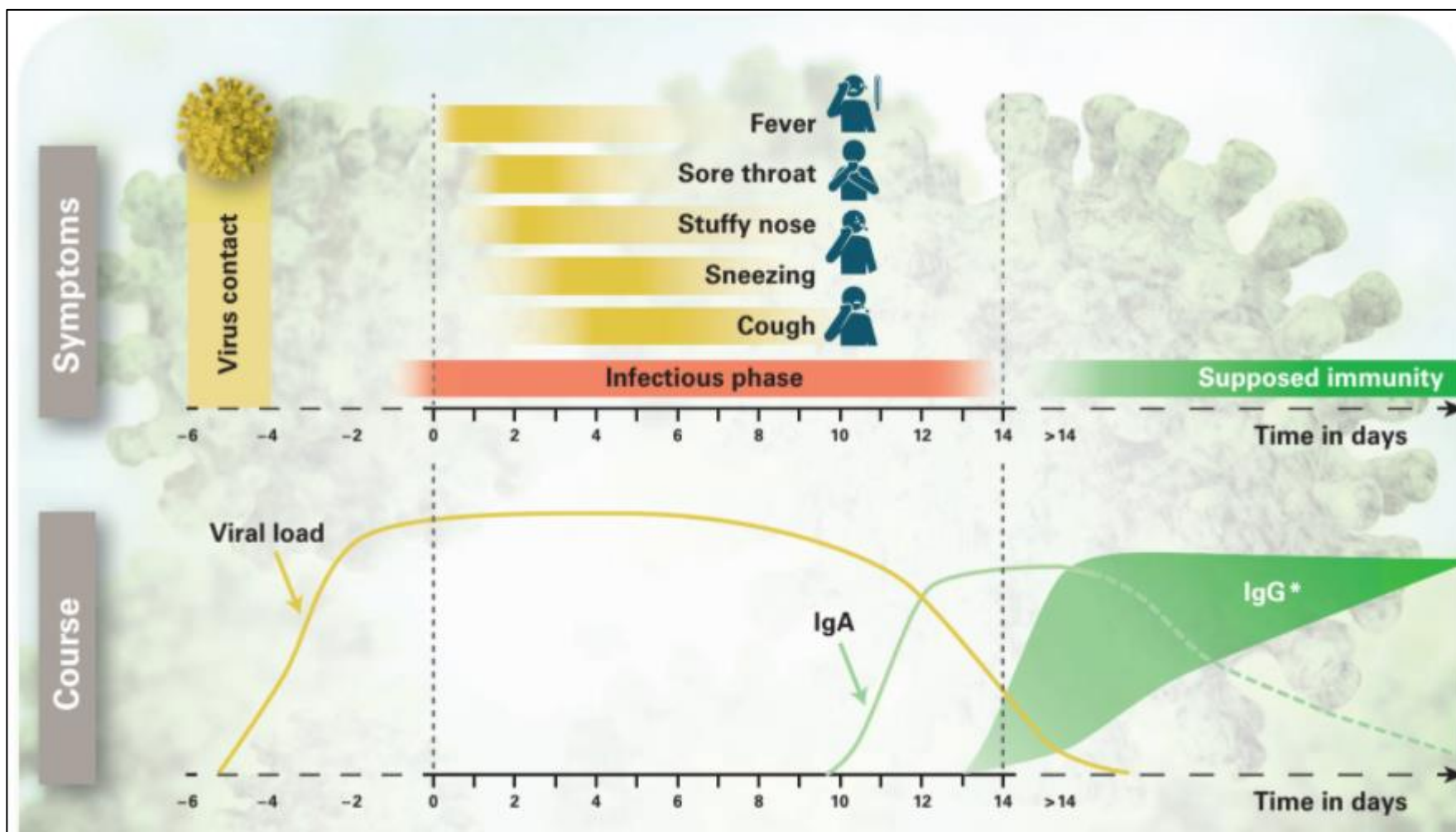


SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

SECRETARIA
DE SAÚDE



Dinâmica da resposta humoral para COVID-19



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

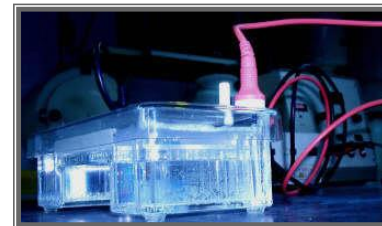
SECRETARIA
DE SAÚDE



Diagnóstico Laboratorial Molecular

PCR: Reação em cadeia da polimerase

- Técnica: Reação de síntese de regiões específicas de DNA em ciclos repetidos. A cada ciclo, o número de fragmentos amplificados é duplicado.



Diagnóstico Laboratorial Molecular

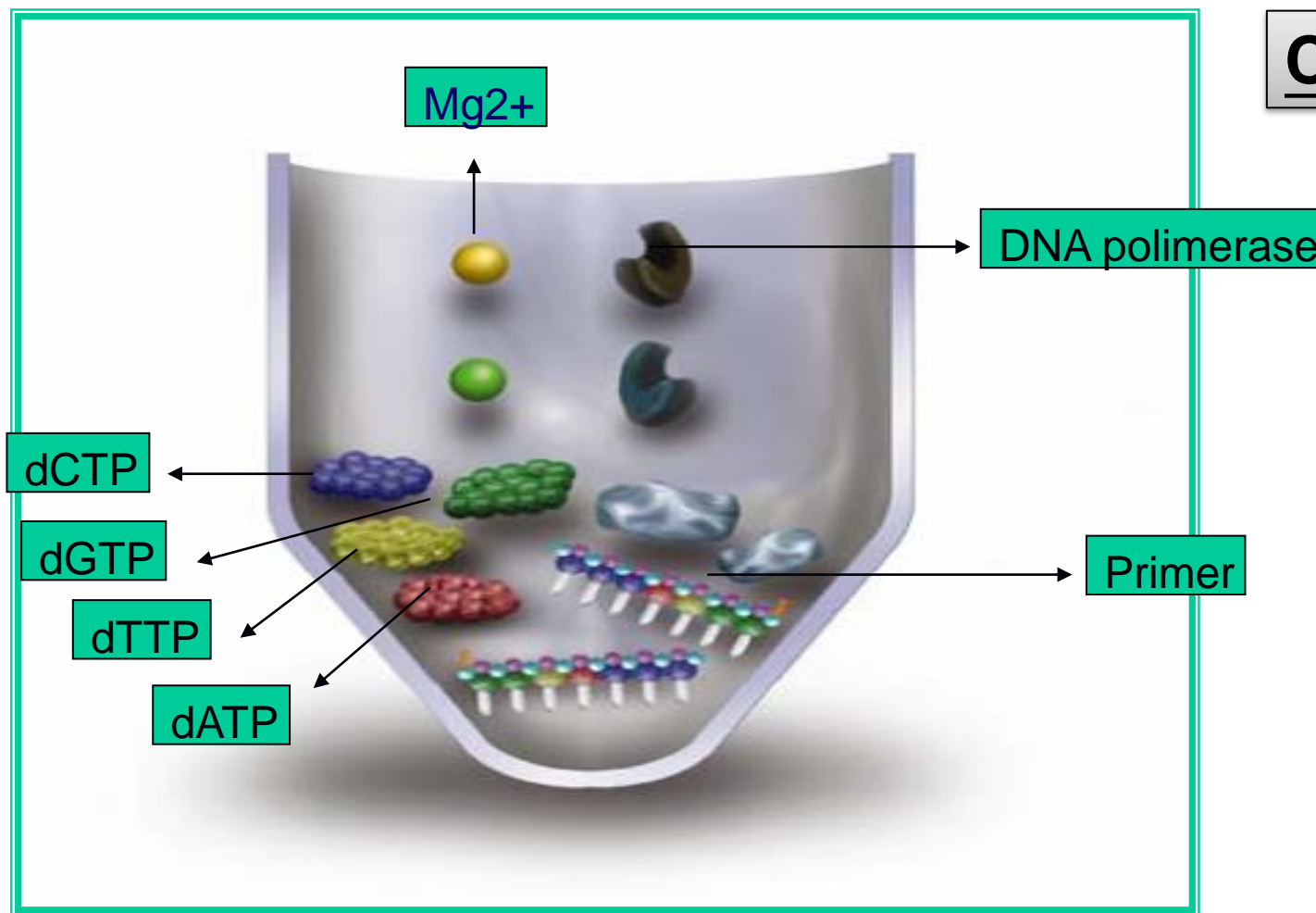
Componentes:

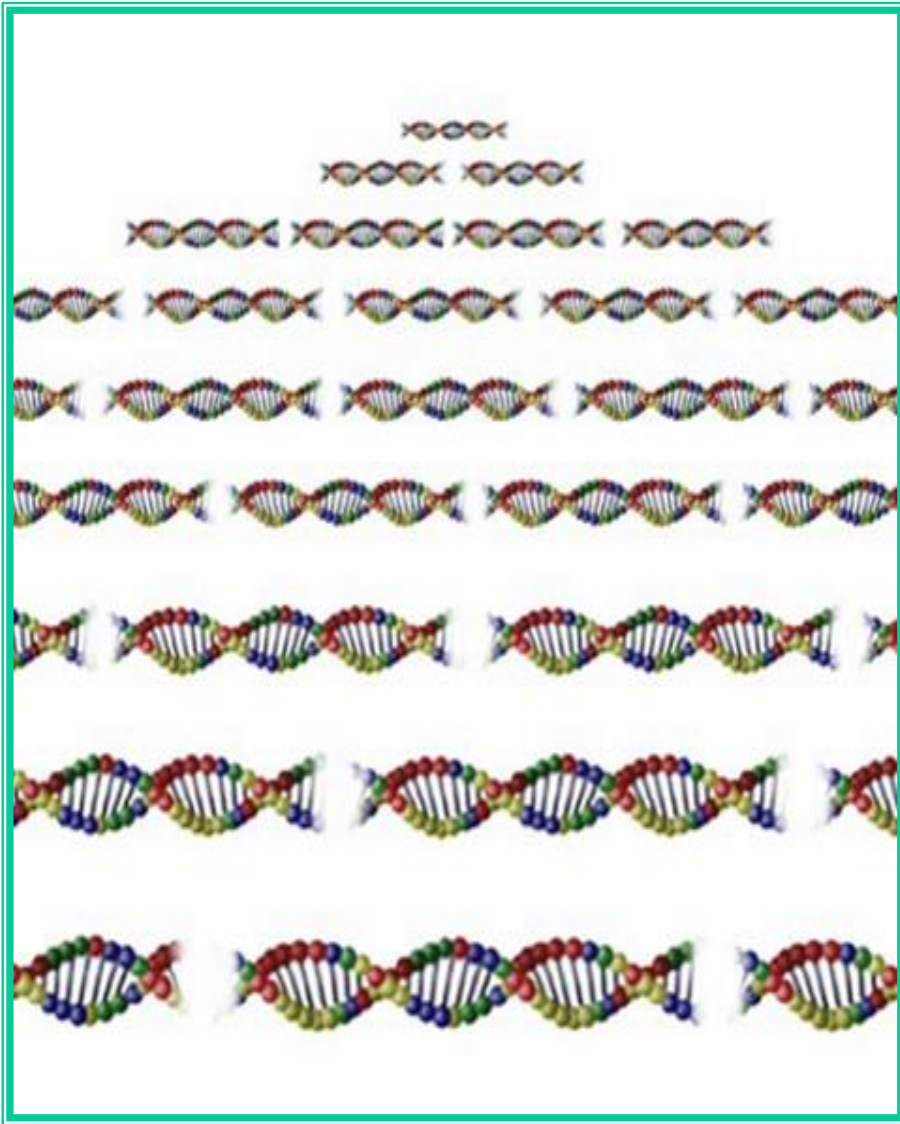
PCR: Reação em cadeia da polimerase

- DNA-molde → seqüência alvo
- Água ultra-pura → filtração, destilação, deionização
- Par de primers → oligonucleotídeos (iniciadores)
- Taq-polimerase → DNA-polimerase termoestável
- Tampão (pH 8,4) → Tris
- $MgCl_2$ → co-fator essencial para atividade enzimática
- dNTPs → blocos construtores: dATP, dCTP, dGTP e dTTP

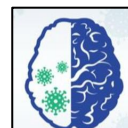
Diagnóstico Laboratorial

Componentes





Nº de Ciclos	Nº de Amplificações
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
20	1,048,576
30	1,073,741,824



SEVS
Secretaria Executiva
de Vigilância em Saúde

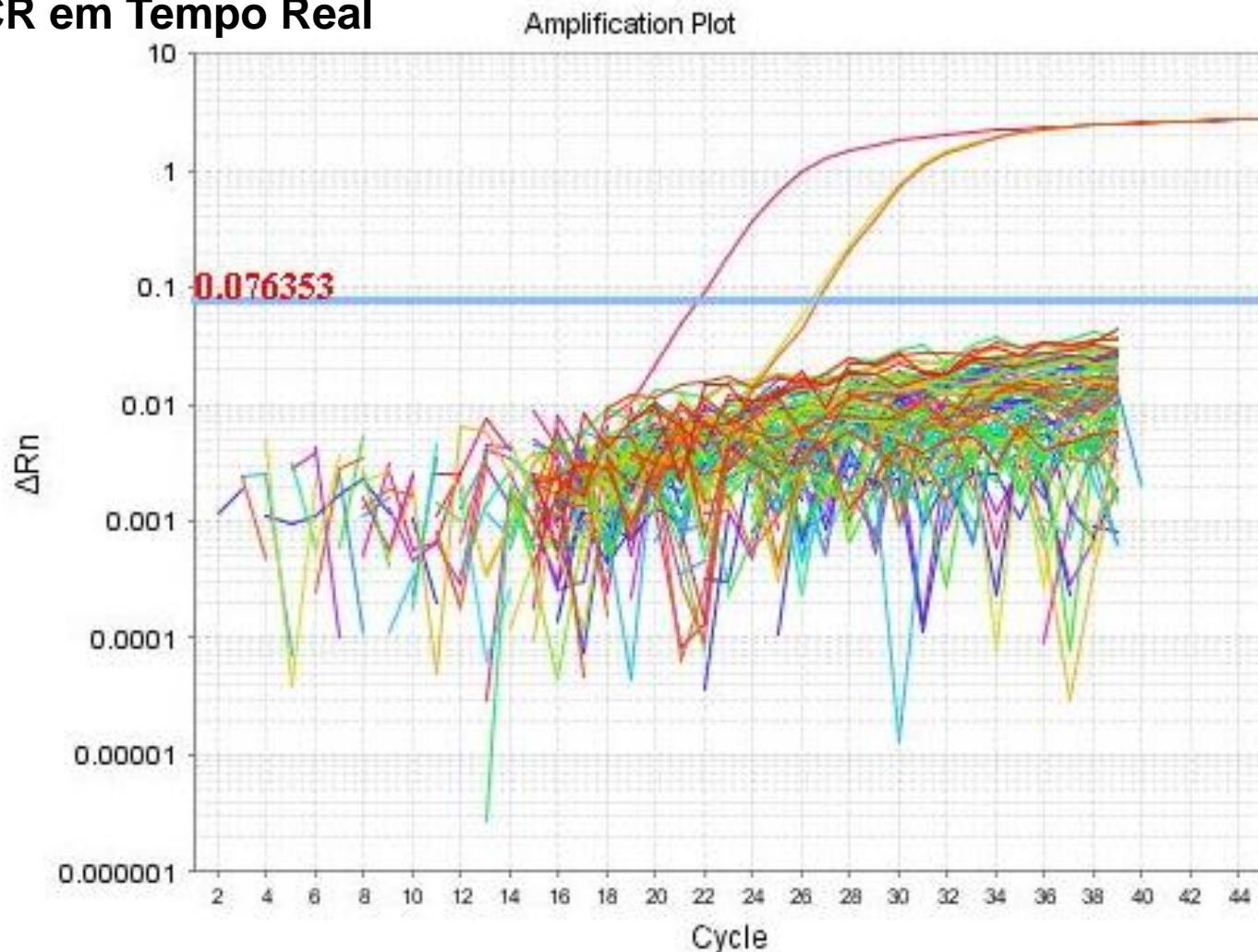
SECRETARIA
DE SAÚDE



GOVERNO DO ESTADO
Pernambuco

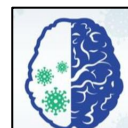
Diagnóstico Laboratorial Molecular

RT-PCR em Tempo Real





Pode haver confusão diagnóstica?






THE LANCET Infectious Diseases

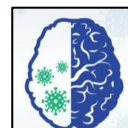
CORRESPONDENCE | [ONLINE FIRST](#)

Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore

[Gabriel Yan](#)  • [Chun Kiat Lee](#) • [Lawrence T M Lam](#) • [Benedict Yan](#) • [Ying Xian Chua](#) • [Anita Y N Lim](#) • et al.

[Show all authors](#)

Published: March 04, 2020 • DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30158-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30158-4)



SECRETARIA
DE SAÚDE

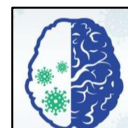


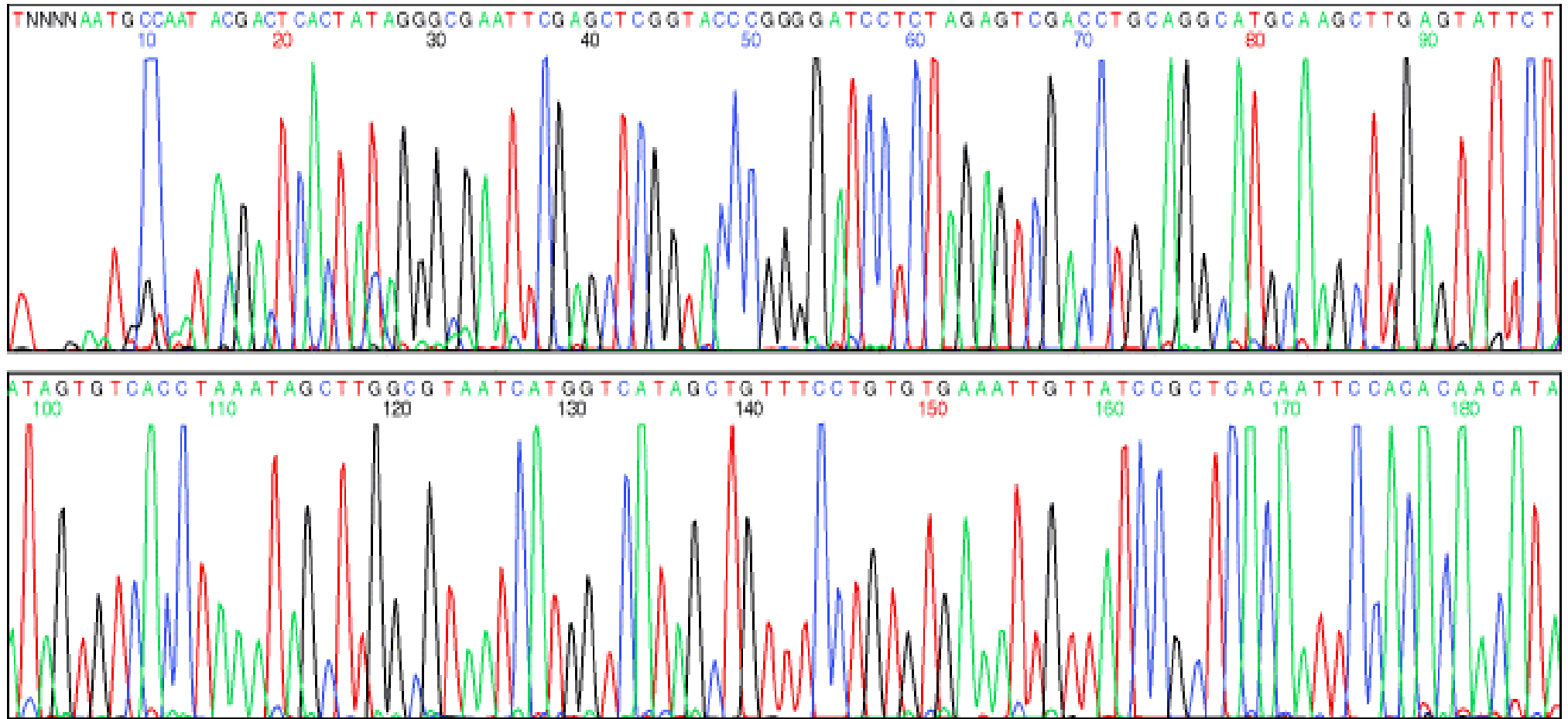
GOVERNO DO ESTADO
Pernambuco



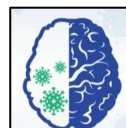


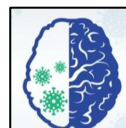
Como está sendo feito o sequenciamento do genoma do SARS-CoV-2?





Eletroferograma





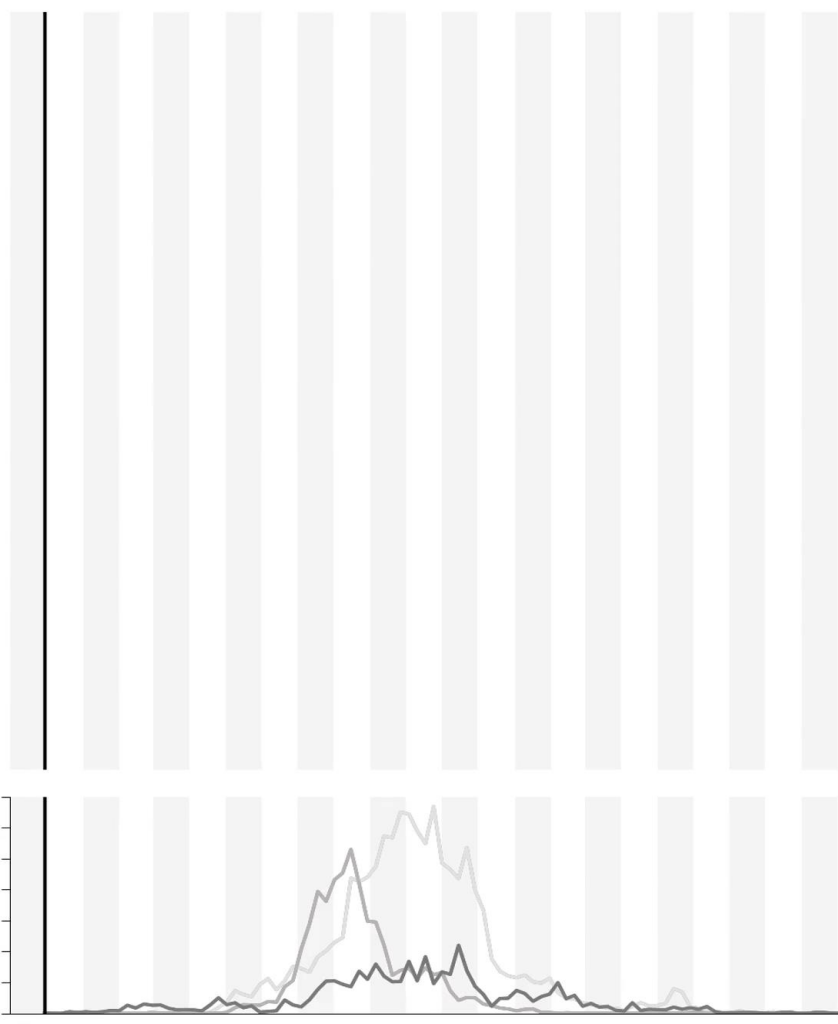
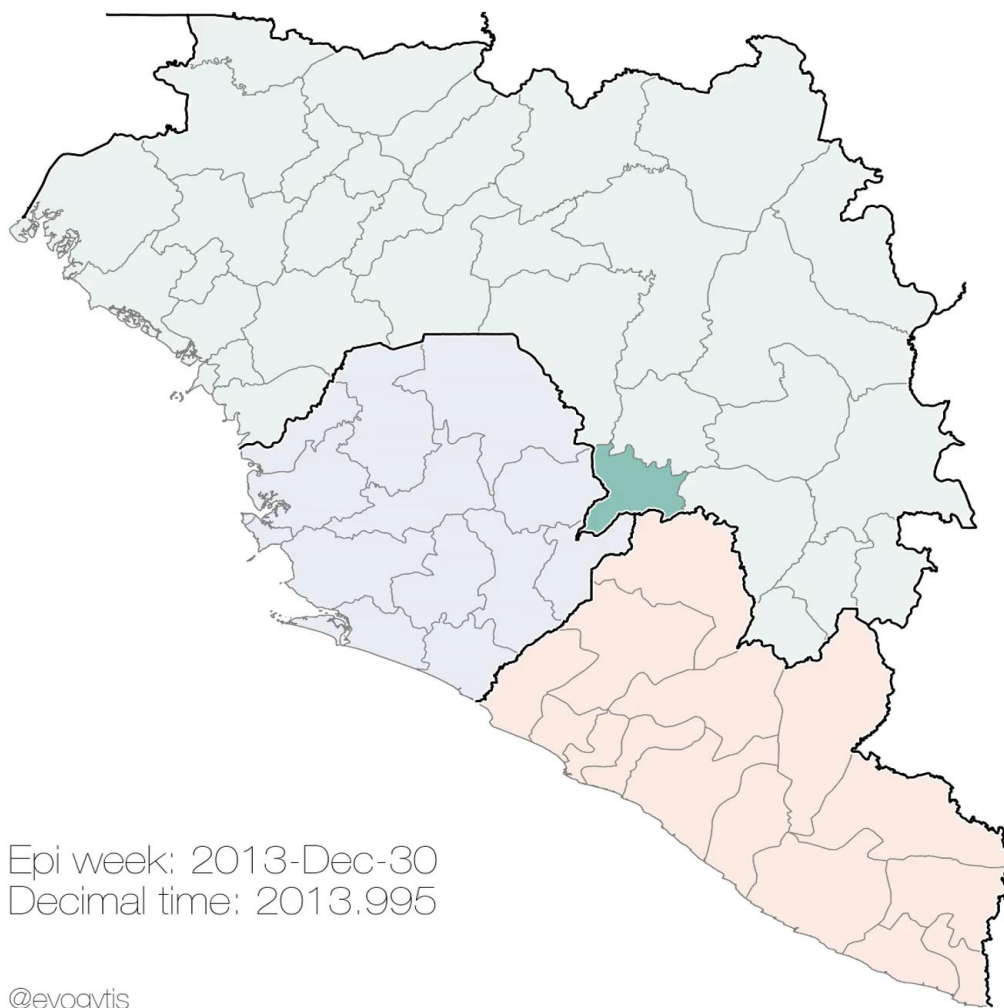
SECRETARIA DE SAÚDE



GOVERNO DO ESTADO
Pernambuco

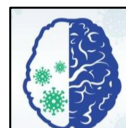


Tecnologia usada com sucesso na epidemia de Ebola



Epi week: 2013-Dec-30
Decimal time: 2013.995

@evogytis

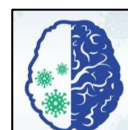


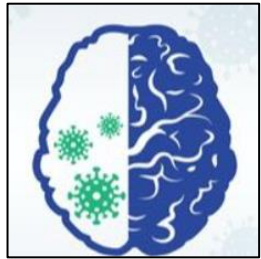
SECRETARIA DE SAÚDE





Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral





Obrigado!

jurandy.magalhaes@upe.br

Instagram: [@jjfmagalhaes](https://www.instagram.com/jjfmagalhaes)

(81) 3181-6227