



## **Categoria Inovação em Gestão Pública**

### **Identificação**

#### **Título:**

Implantação e otimização do ensaio de PCR em tempo real para o diagnóstico laboratorial da influenza A (H1N1) pandêmica no Instituto Adolfo Lutz

#### **Nome da(s) instituição(ões) envolvida(s):**

Instituto Adolfo Lutz

#### **Órgão/Coordenadoria/Grupo/Centro/Núcleo/Unidade Administrativa:**

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz

#### **Nome do responsável pela inscrição e dos integrantes da equipe:**

Lucila Okuyama Fukasawa, Daniela Bernardes Borges da Silva, Fabiana Cristina Pereira dos Santos, Isabel Takano Oba, Adele Caterino-de-Araújo, Maria Gisele Gonçalves, Fabio Takenori Higa, Maristela Marques Salgado, Cláudio Tavares Sacchi e Grupo de Trabalho de Influenza A (H1N1) do Instituto Adolfo Lutz

#### **Categoria:**

Inovação em Gestão Pública

## Descrição Geral da Iniciativa

A influenza ou gripe é uma infecção aguda do sistema respiratório, de natureza viral, distribuição global e elevada transmissibilidade.

O vírus da influenza apresenta genoma de RNA de fita simples, segmentado, revestido por uma matriz protéica (M), apresenta envoltório lipídico e expressa na sua superfície duas glicoproteínas denominadas neuraminidase (NA) e hemaglutinina (HA), codificadas pelos genes da NA e HA, respectivamente. Em relação à glicoproteína de superfície HA, o vírus da influenza do tipo A se subdivide em 16 subtipos (H1 – H16) sendo os subtipos H1, H2, H3, responsáveis pelas pandemias ocorridas no século XX; ainda neste século identificou-se infecção na espécie humana pelos subtipos H5, H7 e H9. Os genes NP e M determinam a classificação dos vírus da influenza em tipos A, B e C, sendo apenas o tipo A associado a episódios pandêmicos. De todas as combinações possíveis entre os subtipos HA e NA, apenas três foram reconhecidos como realmente adaptados à espécie humana: os subtipos H1N1, H2N2 e H3N2 (Sullivan *et al*, Mayo Clin Proc. 2010; 85(1): 64-76).

Em abril de 2009, um novo subtipo de vírus da influenza A, H1N1 de origem suína (A/H1N1), foi identificado em dois casos de infecção humana pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, Atlanta, EUA). Rapidamente, novos casos foram diagnosticados com esse subtipo na América do Norte e em outros países, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a emitir um alerta de Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (CDC, MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2009; 58(15): 400-2).

O diagnóstico laboratorial confirmatório do vírus da influenza A (H1N1) de origem suína é realizado por meio do ensaio de PCR em tempo-real reversa (rRT-PCR). Este ensaio foi padronizado e disponibilizado pelo CDC em 28 de abril de 2009. No Brasil, apenas três Laboratórios de Saúde Pública, Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ (RJ), Instituto Evandro Chagas – IEC (PA) e Instituto Adolfo Lutz – IAL (SP) foram autorizados pelo Ministério da Saúde a realizar a rRT-PCR para o diagnóstico laboratorial da influenza A (H1N1). Estes laboratórios fazem parte da rede de monitoramento do vírus influenza da Organização Mundial de Saúde (OMS) e são Laboratórios de Referência do Ministério da Saúde (MS) no Brasil em vírus respiratórios.

Como laboratório de referência macro-regional, o IAL foi responsável pelo diagnóstico laboratorial da influenza dos Estados de São Paulo, Goiás, Tocantins, Piauí, Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal, dos quais recebeu 37.240 amostras (32.488 de São Paulo e 4.752 dos demais estados) para análise durante a onda epidêmica de 2009.

O ensaio diagnóstico padronizado pelo CDC preconizava a realização de quatro reações separadas de rRT-PCR para cada amostra, tendo como genes alvos: (i) gene M de influenza A universal (InfA), (ii) gene NP de influenza A de origem suína (swInfA); (iii) gene HA específico para o A/H1N1 pandêmico (swH1) e (iv) gene da RNase P humana (RP), o qual atua como controle positivo da reação para indicar a extração adequada do ácido nucléico da amostra clínica. Uma amostra era considerada positiva para influenza A (H1N1) de origem suína se fosse positiva nas quatro reações de rRT-PCR.

Adotando-se o protocolo do CDC, a capacidade analítica do IAL era de 300 amostras/dia, considerando-se o emprego de três equipamentos de PCR em tempo real, jornada de trabalho de 8 horas e corpo técnico com nove funcionários. Esta condição foi totalmente viável no início da epidemia onde tínhamos menor quantidade de amostras para analisar.

Entretanto, durante os meses de julho e agosto de 2009, no pico da epidemia da influenza A (H1N1), a demanda diária de amostras aumentou consideravelmente, chegando-se a cadastrar em um único dia (06 de agosto) 1.111 amostras. Com esta demanda, o emprego do protocolo do CDC para o processamento de todas estas amostras seria completamente inexecutável, considerando-se a estrutura e os recursos humanos de nosso laboratório. Exemplificando, para processarmos 1.000 amostras, empregando-se o protocolo do CDC seriam necessários no mínimo três dias de trabalho, considerando-se a capacidade analítica máxima de nosso laboratório.

Porém, com o contínuo aumento da demanda, acima de nossa capacidade analítica diária, houve um acúmulo de amostras a serem processadas que chegou a atingir 3.188 em um único dia. Nesta situação, para evitar atraso na liberação dos laudos, o IAL teria que aumentar consideravelmente sua capacidade analítica.

Desta forma, a solução que encontramos foi padronizar, otimizar e utilizar ensaios de rRT-PCR em formato *multiplex* para o diagnóstico laboratorial do vírus da influenza A (H1N1) pandêmica objetivando diagnosticar corretamente, aumentar a capacidade analítica do laboratório e reduzir custos. Neste novo formato, as quatro reações de rRT-PCR preconizadas pelo CDC foram combinadas em duas reações *duplex* permitindo o processamento de um número maior de amostras.

Foram padronizadas duas reações em formato *duplex*, mantendo-se os mesmos genes alvos estabelecidos pelo CDC:

- *Duplex 1* (InfA + RP), resultante da combinação das reações de rRT-PCR para a detecção dos genes M e RP;
- *Duplex 2* (swInfA + swH1), resultante da combinação das reações de rRT-PCR para a detecção dos genes NP e HA pandêmico.

As duas reações *duplex* foram testadas em paralelo com as reações individuais (protocolo CDC) em 100 e 120 amostras previamente positivas ou negativas, respectivamente. Os resultados obtidos com o emprego do *Duplex 1* (InfA+RP) apresentaram 100% de concordância em relação aos resultados obtidos pelas duas reações individuais (InfA e RP), sem alteração na sua sensibilidade e especificidade. O mesmo ocorreu com o *Duplex 2* (swInfA+swH1), entretanto a leitura e interpretação dos resultados do *Duplex 2* ficaram difíceis, acarretando um aumento significativo no número de repetições.

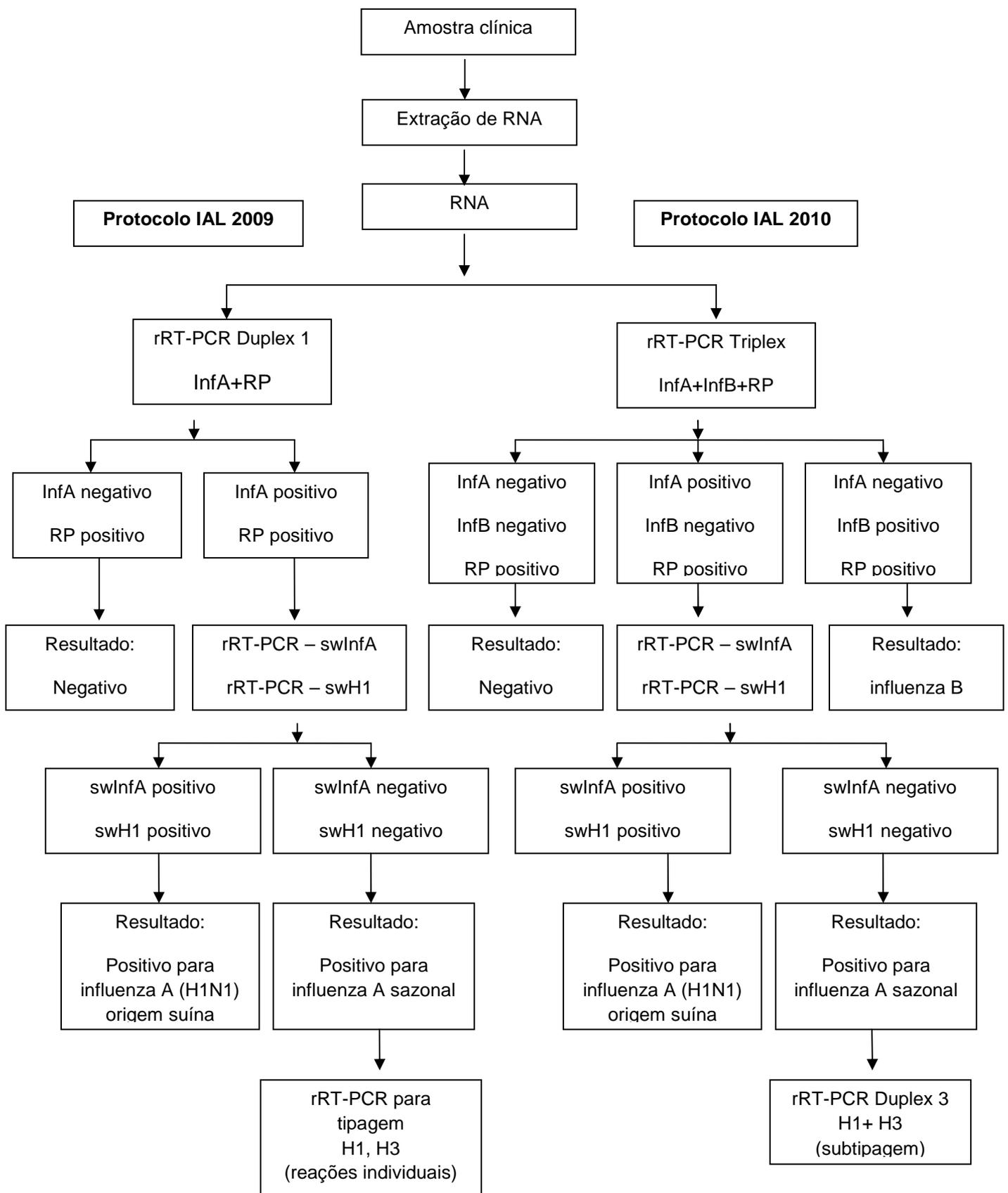
Estes resultados não foram totalmente inesperados, pois cada reação de rRT-PCR apresenta uma cinética diferente. Analisando-se as curvas de amplificação e de emissão de fluorescência de cada uma das quatro reações no formato original CDC, observamos que as reações para InfA e RP apresentaram melhor eficiência que as outras duas reações (swInfA e swH1), o que poderia ser um dos fatores que contribuíram para os problemas de leitura e análise dos resultados obtidos com o *Duplex 2* (swInfA+swH1). Desta forma, o uso do *Duplex 2* não foi mantido em nossa rotina diagnóstica devendo ser futuramente otimizado.

Considerando-se os resultados expostos, decidimos adotar em nossa rotina apenas o *Duplex 1* (InfA+RP), sendo as duas outras reações, para swInfA e swH1, mantidas no formato individual. Assim, no começo de julho de 2009, o IAL implementou este novo protocolo na rotina diagnóstica do vírus da influenza, adotando um novo algoritmo para o processamento das amostras descrito na Figura 1 (Protocolo IAL 2009).

A porcentagem de amostras analisadas com resultados negativos variou durante a onda epidêmica de 2009, mas em média, aproximadamente 50% de todas as amostras processadas foram negativas. Assim, adotamos uma triagem inicial, onde as amostras eram inicialmente submetidas ao *Duplex 1* (InfA + RP). Todas as amostras processadas pelo *Duplex 1* deveriam apresentar reação positiva para o componente RP, indicando a boa coleta do material clínico e o sucesso na extração do RNA viral. Caso contrário, esta amostra seria novamente submetida ao processo de extração. As amostras com resultado positivo para o RP, mas negativo para o InfA eram liberadas como negativas para a influenza A (H1N1) de origem suína. Todas as amostras positivas para os dois genes, InfA e RP, eram então submetidas às duas reações individuais (swInfA e swH1). Caso a amostra fosse positiva para estes dois genes, a amostra era considerada positiva para a influenza A (H1N1) de origem suína. Se a amostra fosse negativa para estes mesmos genes, a amostra era caracterizada como positiva para influenza A universal (sazonal).

Empregando-se este novo protocolo (Protocolo IAL 2009), cada amostra foi submetida apenas a três reações de rRT-PCR (InfA+RP, swInfA e swH1), ao invés das quatro reações como no protocolo original do CDC. Além disso, empregando-se o esquema da triagem com o *Duplex 1* (InfA+RP), um número maior de amostras pôde ser processado por dia, aumentando a capacidade analítica do IAL de 300 para 600 amostras/dia.

**Figura 1.** Algoritmo de processamento de amostras para o diagnóstico laboratorial da influenza por rRT-PCR – Protocolo IAL



Durante o período de 27 de julho a 21 de agosto de 2009, foram processadas 12.226 amostras pelo Protocolo IAL 2009 (Tabela 1). Para isso, foram realizadas 24.452 reações de rRT-PCR, ou seja, 12.226 reações do Duplex 1 (InfA+RP) e, como aproximadamente 50% das amostras processadas pelo Duplex 1 (InfA+RP) foram negativas, apenas 6.113 reações de swInfA e swH1 foram realizadas. Comparativamente, com o protocolo CDC (quatro reações individuais) seriam necessárias 48.904 reações, representando um número de testes 50% maior em relação ao Protocolo IAL 2009. Utilizando-se três equipamentos de RT-PCR, o processamento dessas amostras pelo Protocolo IAL 2009 demandou 20 dias de trabalho ao invés dos 41 dias que seriam necessários com a utilização do protocolo original CDC (Tabela 1).

A adoção do Protocolo IAL 2009 também representou uma redução de 50% em custos de insumos e de tempo de processamento das amostras em relação ao protocolo original CDC (Tabela 1).

Esta estratégia permitiu que o nosso laboratório fosse capaz de processar uma grande quantidade de amostras, atendendo a toda a demanda diária com agilidade na liberação dos laudos, mantendo-se a estrutura física, o número de máquinas de RT-PCR, os recursos humanos e a carga horária de trabalho.

Para o ano de 2010, padronizamos um outro ensaio *multiplex* para a detecção simultânea da influenza A universal (InfA), da influenza B (InfB) e da Rnase P humana (RP). Este ensaio em formato *triplex* (InfA+InfB+RP) compreendeu o *Duplex 1* (InfA+RP) utilizado em 2009 adicionado dos iniciadores e sonda para o InfB (marcada com um terceiro fluoróforo, o Cy5). Adicionalmente, foi padronizado um terceiro ensaio *duplex* (*Duplex 3* H1+H3), para a detecção dos subtipos H1 e H3 da influenza A humana na mesma reação. Ensaios demonstraram que os ensaios *Triples* (InfA+InfB+RP) e o *Duplex 3* (H1+H3) apresentaram sensibilidades e especificidades semelhantes às suas respectivas reações individuais.

As principais vantagens do uso do Protocolo IAL 2010 em relação ao Protocolo IAL 2009 foram a otimização do uso da amostra extraída, redução ainda maior de custos e tempo de trabalho, pois tanto a influenza A e B ou os subtipos H1 e H3 de influenza A sazonal foram detectados simultaneamente.

**Tabela 1.** Comparação entre o protocolo CDC e protocolo IAL no processamento de 12.226 amostras para o diagnóstico laboratorial da influenza A (H1N1) por PCR em tempo real durante a onda epidêmica de 2009.

	Protocolo CDC (4 reações)	Protocolo IAL 2009 (3 reações)	% de redução (-) com o uso do Protocolo IAL 2009
Nº Amostras	12.226	12.226	-
	12.226 (InfA)	12.226 (InfA+RP)	-
Nº reações a serem realizadas	12.226 (RP)		-
	12.226 (swInfA)	6.113 (swInfA)	-
	12.226 (swH1)	6.113 (swH1)	-
	(Total = 48.904)	(Total = 24.452)	-50%
Reações/placa	80	80	-
Nº placas necessárias	611	305	-50%
Nº Placas/dia (8h) (usando 3 máquinas RT-PCR)	15	15	-
Tempo de trabalho	41 dias	20 dias	-50%
Custo dos insumos	R\$ 690.524,00	R\$ 345.262,00	-50%

Em 2011, o IAL estará implantando o diagnóstico da influenza A (H1N1) origem suína em dois laboratórios regionais do IAL, que possibilitará maior rapidez no processamento de amostras do interior do estado. Com a experiência adquirida durante a onda epidêmica de 2009, a descentralização do diagnóstico, a aquisição de novos equipamentos, treinamento de novos profissionais e as modificações nos ensaios laboratoriais que fizemos, o IAL

encontra-se em uma situação mais confortável em 2011, preparado para atender a demanda de futuras epidemias de forma ainda mais eficiente.

### **Caráter Inovador**

A inovação de nosso trabalho consistiu em padronizar, otimizar e implementar na rotina diagnóstica do IAL ensaios de rRT-PCR em formato *multiplex* em um novo protocolo de processamento de amostras de pacientes com suspeita de gripe. Na pandemia de influenza A (H1N1) em 2009, nosso grupo padronizou e implementou ensaios de rRT-PCR *multiplex* para o diagnóstico confirmatório da influenza A (H1N1) em substituição aos ensaios individuais preconizados pelo CDC. Cabe ressaltar que o IAL foi o único dos três laboratórios autorizados pelo MS que investiu na otimização dos ensaios diagnósticos estabelecidos pelo CDC com vistas a diminuir custos e o tempo de realização dos exames.

A adoção desta inovação permitiu ao IAL duplicar sua capacidade analítica, atendendo a toda sua demanda diária com agilidade na liberação dos laudos, contribuindo para o estabelecimento de terapias adequadas aos pacientes, implementação de ações da Vigilância Epidemiológica nos nove estados atendidos e o processamento de amostras de casos de “óbitos a esclarecer” com determinação da taxa de letalidade da doença. Adicionalmente, esta logística permitiu redução de 50% no custo dos exames, mantendo-se a estrutura física, patrimonial e os recursos humanos do IAL.

No ano de 2010, nosso grupo padronizou e implementou um novo ensaio em formato *triplex* para a detecção simultânea da influenza dos tipos A e B, além do gene controle RNase P. Padronizamos também um ensaio *duplex* para a determinação conjunta dos subtipos H1 e H3 da influenza A, os quais representam os subtipos prevalentes em nosso país. Com a incorporação destes novos ensaios na rotina diagnóstica da gripe, o IAL foi capaz de processar um grande número de amostras de forma eficiente, com rapidez na liberação dos resultados e com redução de tempo de trabalho e de custos.

O impacto da adoção destas novas inovações na rotina diagnóstica do IAL foi observado nas áreas médico-hospitalar, da Vigilância Epidemiológica e

da Gestão Pública. Com a liberação mais rápida dos resultados dos exames, o médico assistencialista pôde implantar terapias adequadas aos pacientes contribuindo para a redução da gravidade e letalidade da doença. Por meio de um diagnóstico rápido e confiável, a Vigilância Epidemiológica foi capaz de realizar o monitoramento epidemiológico da pandemia, verificando a incidência e taxa de mortalidade da doença a cada semana epidemiológica. Este monitoramento foi essencial para o desencadeamento de ações de controle, contenção e prevenção da doença em nossa comunidade. Adicionalmente, permitiu a identificação dos tipos e subtipos de vírus de influenza circulantes em nosso país no período pós-vacinação, o que pode contribuir para a adequação imunogênica da vacina contra influenza utilizada anualmente.

Em relação à Gestão Pública, a adoção de ensaios *multiplex* para o diagnóstico da influenza resultou significativa economia para o Estado, pois gerou redução de 50% no custo dos exames e aumento da capacidade analítica do IAL sem a necessidade da aquisição de novos equipamentos e reagentes e da contratação de novos funcionários.

### **Reconhecimento da Inovação**

O presente trabalho afetou diretamente milhares de pacientes com suspeita de gripe A (H1N1) durante a onda epidêmica de 2009, atendidos em unidades de saúde públicas ou privadas de nove estados brasileiros, incluindo-se o estado de São Paulo. A este grupo, incluem-se também pacientes com suspeita de gripe sazonal ou A (H1N1) atendidos em unidades de saúde no ano de 2010.

As inovações implementadas pelo nosso grupo beneficiou primeiramente os pacientes com suspeita de gripe por meio da realização de exames diagnósticos confiáveis e rápidos, o que permitiu o estabelecimento imediato de condutas terapêuticas corretas nestes pacientes, contribuindo assim, para a redução das taxas de mortalidade e complicações da doença.

Outra organização beneficiada foi a Vigilância Epidemiológica que por meio dos resultados dos exames liberados pelo IAL pôde implementar ações para o monitoramento e controle da pandemia de influenza A (H1N1) de forma

ágil e eficaz, evitando a disseminação incontrolável da doença em nossa população. Posteriormente à pandemia, estes exames laboratoriais contribuíram para identificar cepas de vírus resistentes à droga de tratamento (oseltamivir), para avaliar a eficácia da vacina contra a influenza A (H1N1) na população e para monitorar os tipos e subtipos de influenza circulantes no Estado de São Paulo e no país.

As inovações adotadas pelo IAL no diagnóstico laboratorial da influenza A (H1N1), especialmente na pandemia de 2009, tiveram grande repercussão e reconhecimento pela comunidade médica, pelas autoridades em Vigilância Epidemiológica e em Saúde Pública das esferas municipal, estadual e federal e pela população em geral. Todo este reconhecimento pode ser comprovado pelos inúmeros agradecimentos, entrevistas, menções honrosas e prêmios que nosso trabalho recebeu de todos estes grupos. Neste contexto, destacamos o primeiro lugar no “Prêmio de Incentivo a Ciência e Tecnologia para o SUS 2010” concedido pelo Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde (DECIT/MS) e o “Prêmio de Melhores Trabalhos em Pôster” conferido pelo Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo na Conferência Internacional em Epidemiologia – 2010.

### **Eficiência no Uso de Recursos Públicos e Eficácia**

O presente trabalho resultou em redução de 50% no custo dos exames laboratoriais para o diagnóstico da influenza A (H1N1) pandêmica. Adicionalmente, resultou no aumento da capacidade analítica do IAL que passou de 300 para 600 amostras/dia, mantendo-se a estrutura física, patrimonial (equipamentos) e os recursos humanos do instituto. Com esta iniciativa, o IAL foi capaz de processar milhares de amostras de pacientes com suspeita de gripe com agilidade na liberação dos laudos, proporcionando a implantação de condutas terapêuticas corretas nos pacientes, de modo a reduzir as taxas de letalidade e de complicações da doença. Adicionalmente, contribuiu para o monitoramento e controle da doença pela Vigilância Epidemiológica.

Por conseguinte, todos os equipamentos adquiridos pelo IAL durante a pandemia de influenza A (H1N1) de 2009 foram incorporados aos “Laboratórios Multiusuários” do Instituto, os quais representam áreas que podem ser utilizadas por quaisquer funcionários do IAL ou de outras instituições para a execução de ensaios laboratoriais para diagnóstico e/ou pesquisa. A implantação destes laboratórios representa considerável eficiência no uso de recursos públicos, pois permite a otimização do uso de equipamentos, materiais e reagentes por diferentes grupos do Instituto para o desenvolvimento e padronização de novos ensaios laboratoriais para o diagnóstico de outros agentes de importância em Saúde Pública.

### **Relevância do Trabalho**

No ano de 2009, o mundo enfrentou a primeira pandemia de influenza do século XXI. Esta pandemia foi causada por um novo subtipo de vírus da influenza A, H1N1 de origem suína (A/H1N1).

O diagnóstico laboratorial confirmatório do vírus da influenza A (H1N1) de origem suína é realizado por meio do ensaio de rRT-PCR que foi padronizado e disponibilizado pelo CDC. No Brasil, apenas três Laboratórios de Saúde Pública foram autorizados pelo Ministério da Saúde a realizar a rRT-PCR para o diagnóstico laboratorial da influenza A (H1N1), sendo o IAL um deles.

No ensaio padronizado pelo CDC era necessário a realização de quatro reações individuais de rRT-PCR para cada amostra, sendo este protocolo útil para o processamento de pequena quantidade de amostras. Entretanto, em uma situação de epidemia, com o aumento crescente do número de amostras e a urgência na definição dos casos da doença, tornou-se necessário uma otimização do ensaio de rRT-PCR padronizado pelo CDC, para agilizar a liberação dos resultados e reduzir custos. Com esta justificativa, o IAL padronizou ensaios *multiplex* de rRT-PCR e estabeleceu um novo protocolo de processamento das amostras, visando aumentar sua capacidade analítica, sem a necessidade de investimento na estrutura física e de recursos humanos, e com redução de custos e tempo de trabalho.

O emprego dos ensaios *multiplex* para o diagnóstico do vírus influenza A (H1N1) permitiu ao IAL processar 37.240 amostras de pacientes do estado de São Paulo e de outros oito estados brasileiros sem atraso na liberação dos resultados e com redução de 50% nos custos em relação ao protocolo original do CDC.

O presente trabalho apresentou significativa relevância para a população paulista e de outros oito estados brasileiros, pois permitiu ao IAL processar rapidamente milhares de amostras de pacientes atendidos nas Unidades Básicas de Saúde ou Unidades Hospitalares estaduais ou municipais da rede pública e privada. Ainda, proporcionou agilidade na liberação dos resultados, contribuindo para o estabelecimento de terapias adequadas aos pacientes, implementação de ações da Vigilância Epidemiológica nos nove estados atendidos, processamento de amostras de casos de “óbitos a esclarecer” com determinação da taxa de letalidade da doença. Adicionalmente, esta logística permitiu redução de 50% no custo dos exames, mantendo-se a estrutura física, patrimonial e os recursos humanos do IAL.

Os novos ensaios *multiplex* padronizados pelo nosso grupo foram incorporados na rotina diagnóstica da influenza no IAL desde julho de 2009, sendo empregados até o presente momento. Além de proporcionar um rápido diagnóstico da influenza A (H1N1), permite também a detecção simultânea dos vírus da influenza dos tipos A sazonal e tipo B e os subtipos H1 e H3 da influenza, resultado em maior rapidez e redução ainda maior nos custos dos exames.

### **Promoção de Participação e Controle Social**

Na pandemia de influenza A (H1N1) toda a sociedade foi estimulada a participar e contribuir para o controle da doença. À medida que os resultados dos exames foram liberados pelo IAL, a Vigilância Epidemiológica pôde traçar o perfil epidemiológico da doença, verificando a taxa de letalidade, os grupos de risco e suas complicações. Com estas informações, as autoridades em Saúde Pública puderam implementar ações para o controle da doença. Estas ações incluíram treinamento e orientações para profissionais em serviços de saúde,

escolas, creches, consultórios odontológicos, instituições prisionais, aeroportos, rodoviárias e portos. Entre estas ações, incluíram-se também medidas educativas para a população em geral, empregando-se diversas estratégias de comunicação e divulgação das informações, como entrevistas na mídia, construção de página específica na Internet e elaboração de informes e boletins. Com condutas simples, como lavar as mãos ou cobrir o nariz e boca quando tossir ou espirrar, a população participou ativamente para a prevenção da doença.

Em relação aos mecanismos de transparência, publicidade e consulta dos resultados, o IAL tem adotado desde o ano de 2007, o Sistema de Informação e Gestão Hospitalar (SIGH) que permite que quaisquer profissionais de saúde pública cadastrados nas unidades de saúde e de vigilância do estado possam acessar todos os resultados do paciente por meio da Internet. Além dos resultados finais, estes profissionais também podem realizar a rastreabilidade das amostras em todas as etapas de seu processamento, garantindo a qualidade e confiabilidade dos exames liberados.

### **Desenvolvimento de Parcerias**

O IAL faz parte da rede de monitoramento do vírus influenza da OMS, com a função de identificar os tipos e subtipos de influenza circulantes no país para adequação imunogênica da vacina contra influenza utilizada anualmente.

Além disso, o IAL é um dos Laboratórios de Referência (LR) em Vírus Respiratórios designado pelo Ministério da Saúde (MS) e coordenado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), órgão da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Como LR, o IAL integra o Sistema de Vigilância Sentinela da Influenza (Sivep Gripe/MS) em âmbito nacional desde o ano de 2000. Este sistema tem como objetivos: (i) monitorar as cepas de influenza circulantes no país, (ii) avaliar o impacto da vacinação contra a doença, (iii) investigar casos inusitados, (iv) avaliar as taxas de morbidade e mortalidade da doença, (v) produzir e disseminar informações epidemiológicas.

Este sistema conta atualmente com 67 unidades sentinelas, responsáveis pelo atendimento de casos de síndrome gripal e pela coleta de

amostras respiratórias, sendo os dados de atendimento compartilhados pelas Secretarias de Saúde municipal e estadual e pelo SVS/MS. Em relação ao diagnóstico laboratorial, há organização de uma rede hierarquizada, onde as unidades sentinelas encaminham amostras dos pacientes para os Laboratórios de Saúde Pública (LACEN) para identificação e, estes encaminham as mesmas para o LR. O LR tem a função de realizar a cultura destas amostras, identificar e caracterizar as cepas virais e encaminhá-las ao CDC. Todo o fluxo de resultados é compartilhado por todos os integrantes da rede, incluindo-se o SVS/MS. Na seqüência, os dados obtidos pelo CDC são encaminhados para a OMS, integrando a rede de monitoramento mundial da influenza com o sistema Sivep Gripe/MS.

### **Possibilidade de Multiplicação**

Os ensaios *multiplex* padronizados pelo nosso grupo foram repassados em 2010 para dois LACEN (Goiás e Distrito Federal) e para o laboratório regional do IAL localizado no município de São José do Rio Preto (interior do Estado de São Paulo). Com esta iniciativa, o IAL multiplica sua capacidade analítica, possibilitando atender novas epidemias de influenza de forma ainda mais eficiente.

Adicionalmente, o aprendizado obtido no presente trabalho abriu novas perspectivas de desenvolvimento de outros ensaios de RT-PCR em formatos *multiplex* para detecção de outros agentes de interesse em Saúde Pública, como os vírus causadores da dengue e da febre amarela. Outros ensaios de RT-PCR, como para o diagnóstico de febre maculosa e de HTLV-I e II, já estão em fase final de desenvolvimento, devendo ser introduzidos na rotina diagnóstica do IAL em curto prazo.