

Artigo original

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19: Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2

The Instituto Adolfo Lutz in the COVID-19 pandemic: Experience in molecular diagnosis and surveillance of SARS-CoV-2

Segregação espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estado de São Paulo, Brasil

*Spatial segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, São Paulo state, Brazil*

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19: Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2

The Instituto Adolfo Lutz in the COVID-19 pandemic: Experience in molecular diagnosis and surveillance of SARS-CoV-2

Adele Caterino-de-Araujo  <https://orcid.org/0000-0003-0155-6580>

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

RESUMO

Este trabalho descreve os ensaios de rotina e as pesquisas realizadas no Instituto Adolfo Lutz (IAL), durante a pandemia de COVID-19, relacionadas ao diagnóstico molecular da *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). É apresentada a partícula viral, seu genoma e os ensaios e kits utilizados durante o período, contextualizando seu uso e apontando os de melhor desempenho e custo-efetividade. Ademais, destaca as pesquisas relacionadas à utilização de material biológico obtido de gargarejo, saliva, urina e tecidos. Por meio de sequenciamento de nova geração, descreve as variantes virais encontradas no estado de São Paulo e depositadas no *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID) ao longo do tempo, dando ênfase às variantes de interesse (*variant of interest*, VOI) e de atenção (*variant of concern*, VOC). Apresenta estudos sobre: técnica de sequenciamento SANGER da região *S* (*spike*) do genoma viral, útil na triagem de VOI e VOC; predição de estrutura terciária, estabilidade e flexibilidade da proteína, com ênfase à região de ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira na variante P.1; e casos de possível “falha vacinal” relacionados à idade, tipo/local de trabalho e de residência, e a variante viral infectante. Além disso, menciona e discute os Boletins de Monitoramento de SARS-CoV-2, Vigilância Epigenômica, emitidos regularmente pela Instituição, onde é possível acompanhar o surgimento de variantes virais identificadas em cada um dos 17 Departamentos Regionais de Saúde do estado de São Paulo. Por fim, apresenta a relação das pessoas envolvidas direta ou indiretamente na força-tarefa COVID-19 do IAL.

PALAVRAS-CHAVE: *Coronavirus disease 2019* (COVID-19). COVID-19, Diagnóstico. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). Infecção por SARS-CoV-2. Teste RT-PCR para SARS-CoV-2. SARS-CoV-2, Vigilância.

ABSTRACT

This paper describes the routine trials and research carried out at the Instituto Adolfo Lutz (IAL), during the COVID-19 pandemic, related to the molecular diagnosis of *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). The viral particle, its genome and the assays and kits used during the period are presented, contextualizing its use and pointing out those with the best performance and cost-effectiveness. Furthermore, highlights the researches related to the use of biological material obtained from throat wash, saliva, urine and tissues. Through next-generation sequencing, describes the viral variants found in the state of São Paulo and deposited in the Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) over time, emphasizing the variants of interest (VOI) and of concern (VOC). It presents studies on: SANGER sequencing technique of the S (spike) region of the viral genome, useful in VOI and VOC screening; the tertiary structure, molecular stability, and flexibility of S protein, with emphasis on the receptor-binding region of the P.1 variant; cases of possible “vaccination failure” related to age, type/place of work and residence, and the infectious viral variant. In addition, mentions and discusses the SARS-CoV-2 Monitoring Bulletins, Epigenomic Surveillance, regularly issued by the Institution, where it is possible to monitor the emergence of viral variants identified in each of the 17 Regional Departments of Health of the state of São Paulo. Finally, presents the list of people directly or indirectly involved in IAL’s COVID-19 task force.

KEYWORDS: *Coronavirus disease 2019* (COVID-19). COVID-19, Diagnosis. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 infection. SARS-CoV-2 RT-PCR testing. SARS-CoV-2, Surveillance.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia

No período de dezembro de 2019 a janeiro de 2020, foi detectado um surto de pneumonia grave em trabalhadores de um mercado de peixes na cidade de Wuhan, Província de Hubei, China,¹ cujo agente etiológico foi rapidamente identificado (07 de janeiro de 2020) como sendo um novo Coronavírus,² diferente daqueles que causaram a síndrome respiratória aguda grave por Coronavírus (*Severe Acute Respiratory Syndrome*

Coronavirus, SARS-Cov) em 2003, e a síndrome respiratória do Oriente Médio (*Middle East Respiratory Syndrome*, MERS-CoV) em 2012.³ O novo Coronavírus foi denominado primeiramente *WH-Human 1 coronavirus* (WHCV) e/ou 2019n-CoV, e posteriormente, SARS-CoV-2, e a doença *Coronavirus disease 2019* (COVID-19).⁴

O SARS-CoV-2 propagou-se rapidamente por todo o mundo, e a doença por ele ocasionada mostrou ser de alta morbidade e mortalidade, o que conduziu a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*, WHO) a decretar, em 11 de março de 2020, a COVID-19, como sendo uma emergência mundial, uma pandemia.⁵

A partir da detecção dos primeiros casos de COVID-19, a WHO reportou em 11 de julho de 2021 mais de 186,4 milhões de casos confirmados de COVID-19 em todo o mundo, sendo mais de 19 milhões no Brasil (terceiro colocado no ranking mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América e Índia).⁶ Ao mesmo tempo, noticiou mais de 4 milhões de óbitos devido a COVID-19 no mundo, destacando o Brasil como o segundo colocado no ranking mundial, com mais de 532 mil óbitos.⁶

A situação se tornou mais preocupante quando se observou, no Brasil, um aumento assustador de casos de COVID-19 no final do ano de 2020 (denominada “segunda onda”), que coincidiu com o surgimento de uma nova variante viral de atenção (*variant of concern*, VOC) denominada de P.1, atualmente gamma.^{6,7} Esta variante viral vem sendo associada à maior transmissibilidade e carga viral, e à ocorrência de casos graves e fatais de COVID-19 em população de adultos jovens.^{8,9}

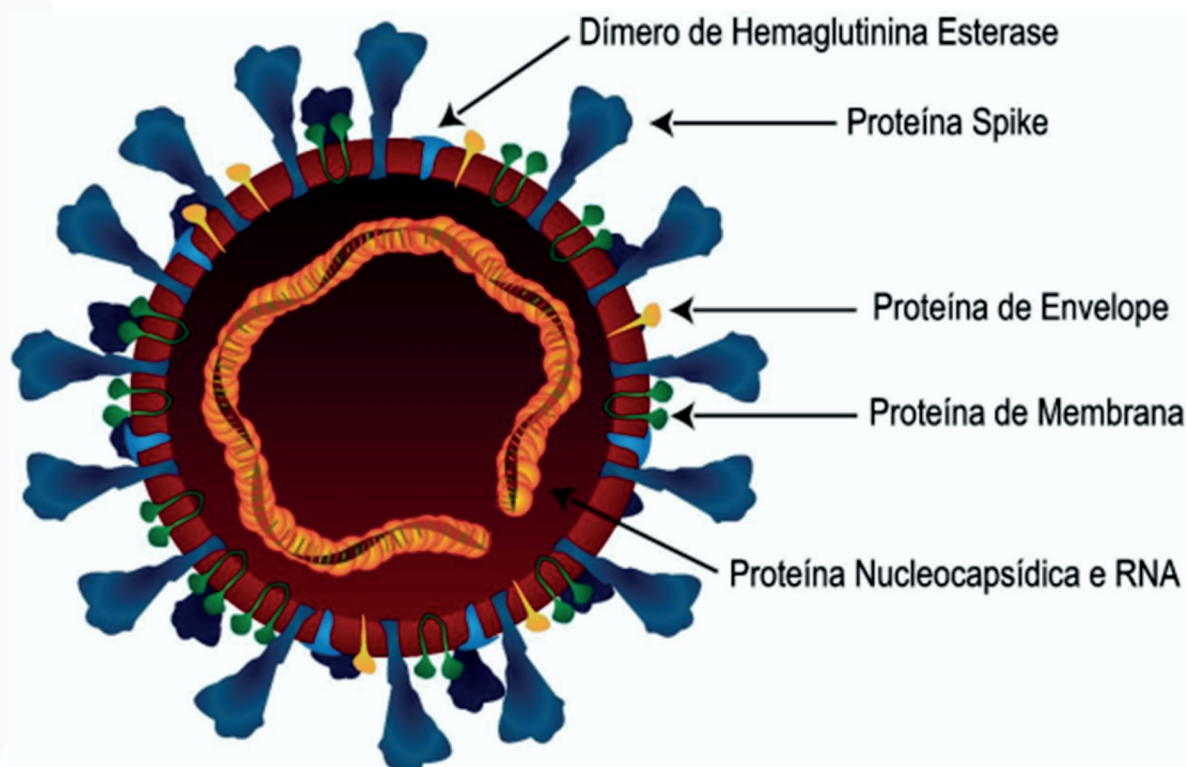
Em 11 de julho de 2021, o estado de São Paulo (com o maior número absoluto de infectados do país) registrou um total de 3.866.178 casos confirmados de COVID-19 e 132.140 óbitos, e a cidade de São Paulo, 1.305.365 casos de COVID-19 e 34.153 óbitos.^{10,11}

1.2. O VÍRUS E O DIGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial confirmatório na fase aguda da COVID-19 (início dos sintomas) se faz por meio da pesquisa de segmentos do genoma viral de SARS-CoV-2 em material coletado de casos suspeitos da doença [nasofaringe e/ou orofaringe (*nasopharyngeal and oropharyngeal samples*, NP/OP), lavado broncoalveolar, saliva, entre outros], utilizando a técnica de transcrição reversa (por se tratar de um vírus RNA) e posterior reação em cadeia da polimerase em tempo real ou quantitativa (*reverse transcription quantitative polymerase chain reaction*, RT-qPCR).

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

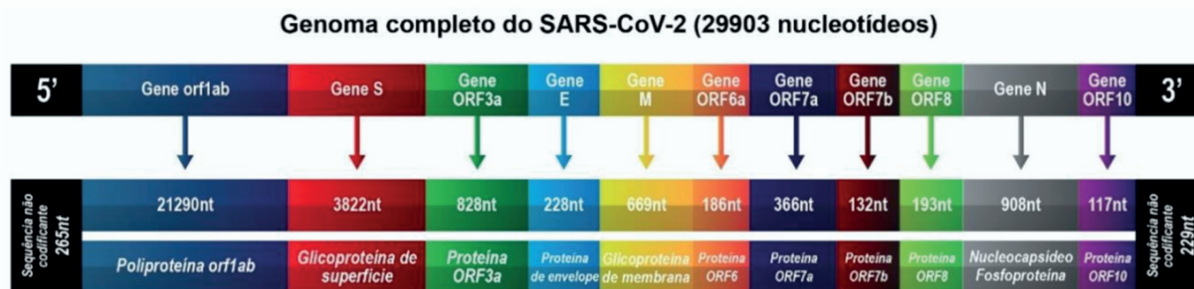
Para tanto, são pesquisados segmentos alvo do genoma viral (*targets*) que codificam regiões conservadas nos *Coronavirus* e específicas de SARS-CoV-2. Resumidamente, o SARS-CoV-2 é um vírus RNA de fita simples, polaridade positiva, envelopado, esférico e com espículas. Seu envelope consiste em uma camada bilipídica onde estão ancoradas as proteínas estruturais de envelope (E), membrana (M), e as espículas (S, *spikes*), além de uma proteína menor de superfície chamada hemaglutinina esterase (HE). A glicoproteína S é composta por duas subunidades funcionais S1 e S2, sendo a S1 responsável pela ligação do vírus às células do hospedeiro através de uma região denominada *receptor-binding domain* (RBD) que se liga ao receptor *angiotensin-converting enzyme 1* (ACE-1), e a S2, pela fusão. No interior do vírus há um nucleocapsídeo (N) que protege o RNA genômico (Figura 1).^{12,13}



Fonte: Costa et al, 2020.¹³

Figura 1. Estrutura da partícula viral de SARS-CoV-2.

O genoma de SARS-CoV-2 é de aproximadamente 30 Kb (quilo pares de base), onde na região 5' (mais de 21 Kb) se encontram as regiões abertas para leitura (*open reading frames, ORFs*), *ORF1a/b* que codificam poliproteínas não estruturais [proteases, polimerase (*RNA dependent RNA polymerase, RdRP*), helicase e endoribonuclease] e na região 3', os genes que codificam as proteínas estruturais S, E, M e N, e outras *ORFs* que codificam proteínas acessórias. O genoma do SARS-CoV-2 é ladeado pelas terminações não codificantes repetitivas (*units terminal repeats*) UTR 5' e UTR 3' (Figura 2).¹³



Fonte: Costa et al., 2020.13

Figura 2. Representação esquemática da estrutura genômica de SARS-CoV-2.

Logo após a descrição do genoma completo de SARS-CoV-2,² muitos protocolos de reação *in house* foram desenvolvidos e sintetizados iniciadores e sondas (*primers* e *probes*) para serem usados nas técnicas de RT-qPCR. Os primeiros protocolos descritos e disponibilizados pela WHO são apresentados na Tabela 1, ressaltando que todos empregavam a técnica de RT-qPCR no formato *single* (uma reação para a pesquisa de cada alvo), alguns empregavam como alvo os genes *E* e *N* comuns ao subgênero *Sarbecovirus* (SARS-CoV, SARS-CoV-2, e vírus relacionados detectados em morcegos), enfatizando que todos os protocolos não haviam sido validados pela WHO e datavam de janeiro de 2020 (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf>).

Tabela 1. Primeiros protocolos de RT-qPCR para detectar SARS-CoV-2, Instituições onde foram desenvolvidos e genes pesquisados.

Institutos	Genes alvo
China CDC, China	<i>ORF1ab, N</i>
Instituto Pasteur, Paris, França	Dois alvos em <i>RdRP</i>
US CDC, Atlanta, EUA	Três alvos em <i>N</i>
NIID, Japão	Múltiplos alvos de Pancoronavírus, <i>S (spike)</i>
Charité, Alemanha	<i>RdRP, E, N</i>
HKU, Hong Kong SAR	<i>ORF1b-nsp14, N</i>
NIH, Tailândia	<i>N</i>

Fonte: (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/whoinhouseassays.pdf>)

De destaque, esses protocolos sofreram alterações/atualizações e novas versões foram disponibilizadas. Os ensaios foram validados pelas agências responsáveis de seus respectivos países e de outras agências internacionais, e alguns se tornaram *kits* disponíveis no comércio. Por exemplo, no protocolo Charité-Berlin, que empregava como alvo os genes *E* e *N* (comuns aos *Sarbecovirus*) e o gene *RdRP* (específico de SARS-CoV-2), teve seu protocolo revisado, e retirada a pesquisa do gene *N*, mantendo-se apenas a *probe* P2 para detecção do gene *RdRP* (<https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>). Ainda, o protocolo do CDC-Atlanta, EUA, que pesquisava o gene *N*,

segmentos *N1*, *N2*, *N3* e o gene da RNaseP humana (*RP*) como controle interno de reação (*internal control*, *IC*), também sofreu várias alterações e melhorias, incluindo a retirada da pesquisa do segmento *N3*, a troca de alguns *primers* e a padronização da técnica em formato *multiplex* (pesquisa de vários alvos em uma única reação de RT-PCR). Este *kit* encontra-se disponível no comércio (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>), assim como *kits* utilizando os dois protocolos, que foram otimizados, modificados, e são comercializados por BioManguinhos, Fiocruz-RJ.

Com o avanço da pandemia COVID-19 que propiciou o surgimento de mutações e variantes virais de SARS-CoV-2, novos ensaios e *kits* foram desenvolvidos e disponibilizados no mercado internacional.¹⁴⁻¹⁷ Eles empregam diferentes alvos e sondas, alguns incluem o gene *S* e outros a RT-qPCR nos formatos *duplex* e *multiplex*.¹⁴⁻¹⁷ Esses ensaios/*kits* apresentam sensibilidades distintas quando testados em padrões de RNA obtidos de sequências genômicas de isolado de SARS-CoV-2, e em algumas amostras clínicas. Porém, devido à escassez de insumos e reagentes e à rapidez com que o vírus se espalhou pelo mundo, muitos *kits* foram disponibilizados e utilizados no diagnóstico de COVID-19, sem um estudo de seu desempenho em amostras clínicas obtidas de pacientes de diferentes regiões geográficas. Não foi diferente no Brasil, onde houve carência de insumos, *kits* e reagentes necessários às várias etapas deste diagnóstico, e os *kits* disponíveis no comércio foram usados sem a devida avaliação de seu desempenho para detectar as estirpes virais que circulam no país.

Coube a alguns Laboratórios de Referência em Vírus Respiratórios do Brasil implantar o diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 utilizando os protocolos e *kits* disponíveis no mercado nacional, treinar outros laboratórios na execução de técnicas moleculares, realizar contraprova dos exames executados por outras unidades de saúde, e contribuir com a rotina diagnóstica de SARS-CoV-2 em sua região de abrangência. Este foi o caso do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo (IAL), que sendo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) e Referência Macroregional em Vírus Respiratórios do Ministério da Saúde do Brasil (*RSV*, *Influenza A* e *B*, *Parainfluenza 1, 2, 3* e *4*, *Adenovirus*, *Rhinovirus*, *Coronavirus*, entre outros), em fevereiro de 2020, tornou-se responsável pelo diagnóstico e vigilância de SARS-CoV-2 em São Paulo e região.

Digno de nota, o IAL foi o primeiro laboratório a implantar o diagnóstico da COVID-19 por RT-PCR no país. Pesquisadores do Laboratório Estratégico (LEIAL) e do Centro de Virologia (CV) junto a pesquisadores do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IMT-FMUSP), utilizando protocolo recomendado pela WHO e a pesquisa de outros vírus respiratórios que poderiam dar sintomas semelhantes

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

à COVID-19, em fevereiro de 2020, liberaram os 24 primeiros resultados negativos de SARS-CoV-2 (à época denominado 2019-nCoV) em casos suspeitos de infecção.¹⁸

Em 26 de fevereiro de 2020, foi identificado o primeiro caso de COVID-19 do Brasil, em São Paulo: tratava-se de um homem com 61 anos que havia retornado de uma viagem à região da Lombardia, Itália, e que quando regressou apresentou sintomas de gripe. Foi atendido no Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo, e a suspeita de COVID-19 se deu pela clínica e o antecedente epidemiológico. O diagnóstico foi confirmado por RT-qPCR para SARS-CoV-2 no Hospital. A contraprova foi realizada no IAL, que em 28 de fevereiro de 2020 participou do primeiro sequenciamento do genoma completo de SARS-CoV-2, isolado deste paciente, juntamente com profissionais do IMT-FMUSP e da Universidade de Oxford, (<https://www.saopaulo.sp.gov.br/spnoticias/governo-de-sp-faz-sequenciamento-genetico-inedito-de-coronavirus-na-america-latina/>). Posteriormente, também pelo mesmo grupo e com as amostras encaminhadas ao IAL para análise, houve a confirmação do segundo caso em pessoa que havia viajado para a Itália, mas sem parentesco ou contato com o caso index,¹⁹ e a seguir o sequenciamento completo de SARS-CoV-2 dos seis primeiros casos de COVID-19 detectados em São Paulo, revelando que três sequências eram idênticas (caso index e dois contatos) e as outras três divergiam, mas havia histórico de viagem à Europa pelos infectados.²⁰

No IAL-SP, durante esta pandemia, vários protocolos, *kits* e equipamentos foram utilizados no diagnóstico molecular da COVID-19. Houve necessidade de se adequar áreas físicas, remanejar, e posteriormente contratar pessoal técnico, criar novos laboratórios (Polos 1, 2 e 3) e um Biobanco (para armazenar as amostras da rotina diagnóstica), bem como, ampliar, contratar e equipar o Laboratório Estratégico (LEIAL) com aparelhos e softwares para sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, NGS), edição e análise das sequências, necessários à vigilância genômica de SARS-CoV-2.

2. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE SARS-CoV-2 NO IAL

2.1. KITS, REAGENTES E PROTOCOLOS

Para a extração de RNA das amostras encaminhadas ao IAL para pesquisa de SARS-CoV-2, foram utilizados diversos protocolos que dependeram da disponibilidade de insumos e equipamentos e da demanda de exames. Foram empregados protocolos de extração manual, automatizada e rápida.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Em síntese, nos sistemas manual e automatizado há quatro etapas (lise da amostra, ligação do RNA à sílica, lavagem e eluição). A diferença entre eles é que o sistema manual ocorre por meio do uso de tubos (um deles contendo coluna com sílica), há necessidade de vórtex, termobloco e centrífuga, a extração deve se realizada dentro de cabine de segurança biológica (devido ao risco biológico), e o tempo de execução para extração de RNA de 32 amostras é de 2,5 h. Já o sistema automatizado utiliza *kit* e aparelho próprio, esferas eletromagnéticas cobertas com sílica, sistema fechado, e é capaz de extrair o RNA de 96 amostras em cerca de 1 h. Quanto à extração rápida, esta emprega um tampão de lise, vórtex, termobloco para aquecimento a 95°C e banho de gelo para resfriamento rápido. São necessários 30 min para processar 32 amostras. Este tipo de extração não separa ácidos nucleicos, apenas os expõe, o que significa extração “suja”. Este fato limita o uso do material extraído em até 24h quando mantido congelado e este RNA não se presta ao sequenciamento.

Os *kits* de extração de RNA utilizados pelo IAL no período foram:

Para extração manual

- Extração de RNA viral – IBMP, Instituto de Biotecnologia do Paraná, PR, Brasil
- Extração de ácidos nucleicos – IBMP, Instituto de Biotecnologia do Paraná, PR, Brasil.
- Extração de DNA/RNA viral BioGene – Bioclin, Quibasa, MG, Brasil.
- QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, USA).

Para extração automatizada

- Loccus Extracta 32 equipment – Extracta Kit NA viral (RNA/DNA) e Extracta Kit Fast DNA e RNA viral, Loccus, SP, Brasil.
- Loccus Extracta 96 equipment – Extracta Kit Fast DNA e RNA viral, Loccus, SP, Brasil.
- Perkin Elmer Chemagic 360-D equipment – Kit Chemagic Viral 300 360H96 (extração de ácido nucleico total), PerkinElmer Inc., Ohio, USA.

Para extração rápida

Foi utilizado o QuickExtract DNA Extraction Solution – Lucigen, Epicentre, USA.

Todas as extrações (manual, automatizada e rápida) seguiram as recomendações dos fabricantes.

Protocolos e Kits de RT-qPCR

Quanto aos protocolos e kits empregados na rotina de RT-qPCR SARS-CoV-2, foram utilizados no período (i) BioManguinhos (*E/RdRP/RP*) - *single*; (ii) BioManguinhos (*N1/N2/RP*) - *single*; (iii) In-house (*E/RP*) - *duplex*; (iv) IBMP (*orf-1ab/N/RP*) - *multiplex* e (v) Allplex (*E/RdRP/N/IC*) + *RP* - *multiplex + single*, ressaltando que no início foram usados *primers* e *probes* referentes aos protocolos Charité-Berlin e CDC-Atlanta, e posteriormente, os kits comercializados por BioManguinhos, Fiocruz-RJ adaptados desses protocolos.

Porém, a maioria das amostras testadas pela RT-qPCR SARS-CoV-2 no IAL empregaram o kit Allplex 2019-nCoV Assay, Seegene, Korea, enviado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde (MS) a todos os LACENs do país. Resumidamente, este kit emprega uma RT-qPCR *multiplex (quadriplex)* e como genes alvo e sondas marcadas *E* (FAM), *N* (Cal Red 610), *RdRP* (Quasar 670) e como controle interno *IC* (HEX). Porém, este *IC* não funcionou bem com os insumos e equipamentos disponíveis nos laboratórios do IAL e de outros LACENs (valores de Ct >35, e 20% de resultados falso-negativos, comunicações verbais). Isto ocorreu provavelmente devido ao fato deste alvo ter sido primeiramente padronizado para as condições e equipamentos do fabricante Seegene (NIMBUS/STARlet equipment), e posteriormente, para outros dois equipamentos (SEEPREP 32, Seegene, and NucliSENS easyMAG, BioMérieux). Também foi otimizado para ser empregado com amostras de RNA extraídas por dois kits (Ribospin vRD Kit, GeneAII, e QIAamp DSP Virus Spin Kit, Qiagen). No entanto, nenhum desses kits e equipamentos se encontra disponível no IAL e nos LACENs do Brasil. Todavia, este kit mostrou ótimo desempenho para a pesquisa dos três alvos específicos de SARS-CoV-2, e foi utilizado sem a adição de seu *IC*. Ademais, no início, para confirmar que havia material (RNA) de boa qualidade para ser amplificado, foi usada pesquisa do gene *RP*, segundo protocolo descrito por Emery e colaboradores.²¹

Todas as outras RT-qPCR foram executadas seguindo as instruções dos fabricantes. O critério de interpretação dos resultados levou em consideração não apenas o valor de Ct (*cycle threshold*), mas também as características das curvas exponencial/linear de amplificação/quantificação. A Tabela 2 mostra com mais detalhes os kits utilizados

na rotina, bem como outros *kits* que foram avaliados quanto ao seu desempenho e custo-efetividade pelo IAL.

Tabela 2. *Kits* e ensaios de RT-qPCR para o diagnóstico de SARS-CoV-2 testados e utilizados pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo

Nome do kit/ensaio no comércio	Desenvolvedor/ Fabricante (país)	Nome do kit/ ensaio na rotina	Genes alvo (fluoróforo de marcação da sonda)	Método	Valor de Ct para resultado positivo (detectado)
GeneFinder COVID-19 plus RealAmp kit	Osang Healthcare Co. (Korea)	GeneFinder	<i>RdRP</i> (FAM), <i>N</i> (VIC), <i>E</i> (Texas Red), <i>IC</i> (Cy5)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
2019-nCoV RNA PCR-Fluorescent Probing	Da An Gene Co. (China)	Da An Gene	<i>N</i> (FAM), <i>ORF 1ab</i> (Yellow), <i>IC</i> (Cy5)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
Charité-Berlin v2 protocol ²²	Charité-Berlin (Alemanha)	Charité-Berlin	<i>E</i> (FAM), <i>RdRP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 40
In-house RT-qPCR SARS-CoV-2, IAL ²²	IAL (Brasil)	In house IAL	<i>E</i> (FAM), <i>RP</i> (HEX) <i>RdRP</i> (FAM)	Duplex RT-qPCR Single RT-qPCR	Ct ≤ 38
2019-nCoV kit ^a	IDT, CDC Atlanta (EUA)	IDT-CDC	<i>N1</i> (FAM), <i>N2</i> (FAM), <i>RP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 39
Molecular SARS-CoV-2 (E) Bio-Manguinhos ²²	Bio-Manguinhos (Brasil)	Bio-Manguinhos	<i>E</i> (FAM), <i>RP</i> (FAM)	Single RT-qPCR	Ct ≤ 40
Allplex 2019-nCoV Assay ^b	Seegene (Korea)	Allplex	<i>E</i> (FAM), <i>N</i> (Quasar 670), <i>RdRP</i> (Cal Red 610), <i>IC</i> (HEX)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40
Biomol OneStep/COVID-19 IBMP	IBMP (Brasil)	IBMP	<i>N</i> (HEX/VIC), <i>ORF 1ab</i> (FAM), <i>IC</i> (ROX)	Multiplex RT-qPCR	Ct ≤ 40

Ct, cycle threshold; *RdRP*, RNA-dependent RNA polymerase; *ORF1ab*, open-reading frame *ORF1ab* region; *N*, nucleocapsid; *E*, envelope gene; *RP*, human ribonuclease p; *IC*, internal control. ^a, atualmente comercializado por BioManguinhos, Fiocruz-RJ. ²², Protocolos revisados e adaptados de Corman et al., 2020. ^b, *IC* não acrescido ao teste e posteriormente substituído por *RP*.

3. PESQUISAS RELACIONADAS AO DIGNÓSTICO MOLECULAR

Pesquisadores do Núcleo de Doenças Respiratórias do CV, preocupados com a escassez de insumos e o aumento da demanda de exames de diagnóstico molecular da COVID-19, decidiram logo após o envio pela CGLAB do *kit* Allplex 2019-nCoV Assay, Seegene, otimizá-lo para as condições do laboratório (insumos e equipamentos disponíveis). Assim, realizaram uma modificação no seu *IC* (HEX) substituindo-o por *RP* (VIC), com ótimo desempenho (dados não publicados).

Ainda, pesquisadores do CV vislumbrando que haveria escassez de *swabs* e equipamentos de proteção individual utilizados na coleta de material de NP/OP para pesquisa de SARS-CoV-2, decidiram avaliar o emprego de material de gargarejo coletado pelo próprio paciente, utilizando para tanto solução fisiológica e tubo de ensaio. Em pesquisa realizada com profissionais da área da saúde e trabalhadores terceirizados do IAL e usando o *kit* Allplex para detectar casos incidentes, foram capazes de verificar diferenças nos valores de Ct de acordo com o status clínico dos indivíduos: Ct mais altos em assintomático, e mais baixos em pré-sintomático e sintomático, além de valores de Ct mais altos em amostras obtidas por gargarejo quando comparadas às obtidas de NP/OP. Apesar da diferença nos valores de Ct, amostras de gargarejo se prestaram ao diagnóstico de SARS-CoV-2.²³

Posteriormente, com intuito de diminuir ainda mais os custos e tempo para realização de exames, os mesmos pesquisadores usando o *kit* Allplex compararam os resultados obtidos em amostras individualizadas e em *pool* de cinco e dez amostras. Usaram para a composição dos *pools*, material armazenado em freezer obtido de NP/OP, gargarejo e saliva que haviam sido analisados anteriormente de forma individual quanto à presença de SARS-CoV-2, e empregaram dois métodos de extração de RNA: método manual utilizando o QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, USA) e método rápido utilizando o Quick Extract DNA extraction solution (Lucigen, USA). Os resultados obtidos mostraram que a técnica de *pool* de amostras pode ser usada quando as amostras individuais apresentam valores de Ct <30. Quando os Ct >30 há limitações no uso do *pool*, principalmente quando se usa material extraído pelo *kit* Lucigen (extração rápida), que pode resultar falso-negativo para SARS-CoV-2. No entanto, para triagem de pessoas potencialmente infectantes (que apresentam alta carga viral, e conseqüentemente, valores mais baixos de Ct), a técnica de *pool* de amostras mostrou ser fatível.²⁴

Outro estudo de comparação de desempenho e custo-efetividade de técnicas de extração de RNA foi conduzido por pesquisadores do LEIAL e do Centro de Imunologia (CIM). Foram selecionadas aleatoriamente 300 amostras de NP/OP de biobanco de COVID-19 e empregados os *kits* de procedência nacional para as técnicas de extração manual e automatizada (BioGene, Bioclin Quibasa, MG e Loccus, Extracta Kit FAST e Loccus 32 equipment, Loccus, SP, respectivamente), e para a extração rápida, o Quick DNA Extract Kit, Lucigen, USA. Na RT-qPCR SARS-CoV-2 foram usados o *kit* Allplex e o protocolo Charité-Berlin. Os resultados obtidos com as extrações de RNA usando o *kit* Allplex revelaram que tanto a extração manual (BioGene) como a automatizada (Loccus) eram 100% sensíveis na detecção de SARS-CoV-2, e a extração rápida (Lucigen) 91,9% sensível. Porém, usando o protocolo Charité-Berlin, as sensibilidades decaíram para cerca

80% (manual e automatizada) e 60,7% (rápida), sendo o alvo *RdRP* o mais comprometido pela extração de RNA. Com esses resultados concluiu-se que as extrações, manual e automatizada, são eficientes, e embora a extração manual seja menos dispendiosa, a automatizada permite extrair mais amostras em um menor tempo, sendo de escolha durante epidemias e pandemias. Apesar de menos sensível, a extração rápida pode ser usada durante surtos com o *kit* Allplex (índice *Kappa*, $\kappa = 0.925$).²⁵

Outro trabalho realizado por pesquisadores do CIM, LEIAL e Centro de Bacteriologia (CB), foi verificar o desempenho e custo-efetividade de diferentes *kits*/protocolos de RT-qPCR disponibilizados para a pesquisa de SARS-CoV-2 no IAL, no ano de 2020. Duzentas e cinco amostras de NP/OP de biobanco e sete *kits*/protocolos disponíveis no mercado nacional foram empregados nesta pesquisa: (i) GeneFinder COVID-19 plus RealAmp kit; (ii) 2019-nCoV RNA PCRFluorescence Probing, Da An Gene Co.; (iii) *in house* RT-qPCR SARS-CoV-2 IAL; (iv) 2019-nCoV kit, IDT; (v) molecular SARS-CoV-2 (E) kit, Bio-Manguinhos; (vi) Allplex 2019-nCoV modified Assay, Seegene Inc, e (vii) Biomol one-step COVID-19 kit, IBMP. Os resultados obtidos evidenciaram que, embora com sensibilidade e especificidade distintas (sensibilidade variando entre 83,6% e 100% e especificidade entre 97,8% e 100%), todos se prestaram ao diagnóstico de SARS-CoV-2 (todos $\kappa \geq 0.893$), não obstante, os que usavam o formato *multiplex* e pesquisavam mais de um alvo (gene) tenham sido mais sensíveis e de melhor custo-efetividade.²⁶ Ainda, nesse mesmo estudo, padronizaram um ensaio *duplex* de RT-qPCR *in house* que utiliza a pesquisa do gene *E* (FAM) junto a *RP* (HEX),²⁶ com base nos alvos e protocolos descritos em anos anteriores.^{21,22} Esse trabalho foi de importância, pois mostrou que o protocolo *duplex* de RT-qPCR *in house* era exequível, de menor custo, e poderia ser usado como rotina na falta de insumos e de outros *kits* no mercado nacional. Ademais, comprovou que apesar dos problemas evidenciados com o *IC* do *kit* Allplex, esse *kit* foi o que apresentou o melhor desempenho podendo ser usado com segurança pelos LACENS.²⁶

Outras pesquisas se seguiram, uma delas conduzida no Centro de Laboratório Regional de Santo André (CLR-Santo André), na qual um caso atípico de COVID-19 com quadro de hematúria teve seu diagnóstico confirmado pela pesquisa de SARS-CoV-2 na urina usando dois protocolos/*kits* (Charité-Berlin, BioManguinhos, Fiocruz-RJ e IDT, CDC/BioManguinhos, Fiocruz-RJ). Esse estudo ressaltou a importância desse fluido biológico como potencialmente infectante, e discutiu possíveis formas de transmissão/aquisição viral através de aerossóis formados durante descarga em banheiros públicos, manipulação (centrifugação) de urina em exames de laboratório, e cirurgias do aparelho urinário, entre outros.²⁷

Outro estudo importante conduzido nos laboratórios do CV e CLR-Santo André, comparou o desempenho de dois testes rápidos (imunocromatográficos) de pesquisa de antígeno de SARS-CoV-2 (COVID-19 Ag ECO Test, ECO Diagnóstica e Panbio COVID-19 Ag Rapid Test, Abbott) com a pesquisa de RNA pela RT-qPCR em 108 amostras de NP/OP de casos suspeitos de COVID-19. Foram usados três kits de RT-qPCR disponíveis nos laboratórios (GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit, Allplex Kit, e IDT, CDC/BioManguinhos). No geral, os resultados obtidos com os testes rápidos quando comparados à RT-qPCR evidenciaram sensibilidade de 87%, especificidade de 96%, $\kappa = 0,84$. Portanto, apesar de menos sensíveis, os testes rápidos demonstraram ser uma boa alternativa, em virtude de sua rapidez, simplicidade e baixo custo, podendo auxiliar no diagnóstico rápido da COVID-19 e no controle de sua disseminação.²⁸

Outra aplicação de técnicas moleculares de diagnóstico da COVID-19 se refere a estudos de fisiopatologia e causa *mortis*, em que material de autópsia pode ser analisado por RT-PCR, além da histologia, microscopia eletrônica (ME) e imunohistoquímica (IHQ); o primeiro detectando RNA viral e as subsequentes, alterações teciduais, partículas virais completas (vírions) e presença de antígenos de SARS-CoV-2 em tecidos, respectivamente. Nesse sentido, um estudo relevante conduzido em parceria entre pesquisadores do Centro de Patologia (CPA) e da FMUSP com material de autópsia de cinco crianças e adolescentes que morreram de COVID-19 (idade entre sete meses a 15 anos), evidenciaram a presença de SARS-CoV-2 em órgãos vitais como pulmões, coração, cérebro, rins, fígado e baço. Em todos os pacientes, o SARS-CoV-2 foi detectado nos pulmões, coração e rins por pelo menos um dos métodos de RT-PCR, IHQ ou ME. Os autores concluíram que a presença de SARS-CoV-2 em vários órgãos associada a alterações celulares, confirma a hipótese que o SARS-CoV-2 tem efeito direto nos tecidos envolvidos na patogênese da síndrome inflamatória multisistêmica em crianças (*multisystem inflammatory syndrome in children, MIS-C*).²⁹

Mais recentemente, o mesmo grupo de pesquisadores do CPA em estudo colaborativo com pesquisadores da Faculdade de Odontologia da USP e da FMUSP, e usando as técnicas descritas para pesquisa de SARS-CoV-2 em tecidos, realizaram um estudo em material de biópsia de glândulas salivares de 24 pacientes que morreram em decorrência da COVID-19. Houve a detecção de SARS-CoV-2 por RT-PCR em dois terços das amostras analisadas, além da presença de antígenos de SARS-CoV-2 por IHQ, e a visualização de replicação viral (aglomerado de vírions) por ME. Os resultados obtidos indicaram que as glândulas salivares são reservatório de SARS-CoV-2, e deram suporte ao uso da saliva como método de diagnóstico da COVID-19, e como fonte de disseminação da doença.³⁰

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

4. PESQUISAS RELACIONADAS AO SEQUENCIAMENTO GENÔMICO

Tão importante quanto os estudos apontados anteriormente, foram aqueles que buscaram realizar a vigilância genômica de SARS-CoV-2, utilizando sequenciamento de nova geração (*next-generation sequencing*, NGS) realizados no LEIAL. Um compilado das atividades e sequências completas depositadas no *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), assim como das variantes virais que circularam durante o primeiro ano de pandemia da COVID-19 no Brasil, foi recentemente publicado por pesquisadores do LEIAL, CB e CIM no Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA).³¹ Ademais, vêm sendo elaborados e emitidos Boletins de Monitoramento de SARS-CoV-2 pelo Centro de Respostas Rápidas (CCR) do IAL, publicados periodicamente no site do IAL (<http://www.ial.sp.gov.br/>), e na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) da SES-SP (<https://ses.sp.bvs.br/producao-cientificadosp-profissionais-da-ses-sp-indexadas-na-bvs-ric/>).

Nos Boletins de Monitoramento da SARS-CoV-2 de 2021, pode-se acompanhar a evolução das variantes virais que circulam nos 17 Departamentos Regionais de Saúde do Estado de São Paulo (DRS-I a DRS-XVII) com figuras representativas em percentagens de cada variante viral encontrada, com destaque para as VOC e para as variantes de interesse (*variants of interest*, VOI).³²⁻⁴⁴

Digno de nota, esses Boletins refletem com maior precisão o que vem ocorrendo no Estado de São Paulo, visto que esse Estado é heterogêneo, e cada região de saúde tem sua particularidade, como: tradição na construção das políticas regionalizadas, dinâmica de movimento populacional, características geográficas, condições socioeconômicas e orçamentárias e participação nas diferentes Redes Regionais de Atenção à Saúde.

Em um trabalho conjunto dos Grupos de Vigilância Epidemiológica e os 12 CLRs-IAL, vêm sendo selecionadas amostras positivas para SARS-CoV-2 com relevância clínico-epidemiológica e com representatividade estatística, e encaminhadas ao LEIAL para sequenciamento. Apesar do LEIAL ser o responsável pela maioria das sequências depositadas em GISAID de São Paulo, nos últimos meses, foram realizados estudos com material sequenciado tanto pelo IAL, como por outras instituições, desde que com qualidade aceitável, de acordo com a Resolução SS-28/2021. Isto vem possibilitando a identificação da ocorrência de casos e acompanhamento da disseminação da doença no tempo e no espaço, identificando municípios que apresentam risco alto de casos e óbitos em comparação aos municípios vizinhos.

De destaques, no Boletim de Monitoramento da SARS-CoV-2 do IAL de janeiro de 2021, foi confirmada a presença da VOC do Reino Unido B.1.1.7 (atualmente denominada

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

alpha), em dois casos de COVID-19 de São Paulo, cujas amostras foram encaminhadas ao IAL pelo laboratório privado DASA.³² Em dois Boletins de Monitoramento de fevereiro de 2021 foram descritos os primeiros casos da VOC brasileira P.1 (*gamma*) identificadas em São Paulo: os três primeiros casos se referiram a uma pessoa que voltou de viagem a Manaus, e os outros dois a uma paciente de Manaus que veio a São Paulo em busca de tratamento de saúde e sua acompanhante.³³ Também em fevereiro, foram descritos sete casos da variante P.1 em militares do Exército que participaram da Operação Acolhida em Boa Vista, Roraima. Lá, apresentaram sintomas da COVID e foram transportados a São Paulo em avião da Força Aérea Brasileira, recebidos por equipe de saúde, e isolados em Hospital Militar de Área de São Paulo. O material de NP/OP foi coletado e enviado ao IAL para análise. Em sete casos foi detectada a variante P.1 e as sequências depositadas em GISAID.³⁴ Em março de 2021, a variante P.1 já circulava em altos percentuais em São Paulo, na região de Bauru (39,5% das linhagens sequenciadas) e Presidente Prudente (15,7%).³⁵ Com o passar dos meses os percentuais da variante P.1 foram aumentando e ela se propagou para todas as regiões de saúde do estado.^{35-40,42-43} Em junho de 2021, passou a ser responsável por 83% das linhagens detectadas no Estado de São Paulo.⁴⁴ Digno de nota, em 26 de maio de 2021, foi confirmado o primeiro caso da VOC indiana (B.617.2 ou *delta*) em São Paulo, cujo material foi coletado no Aeroporto Internacional de Guarulhos e encaminhado ao IAL pelo laboratório privado CR Diagnósticos. Tratava-se de um homem de 32 anos, que retornou de viagem ao país asiático com sintomas leves de COVID-19. O paciente seguiu para o Rio de Janeiro, município em que pernitoiu em hotel próximo ao Aeroporto Santos Dumont, seguindo posteriormente em veículo fretado para Campos dos Goytacazes, seu local de residência.⁴¹

Diante do exposto e devido ao aumento do número de casos de COVID-19 em São Paulo e no Brasil em decorrência da variante P.1, e sabendo da dificuldade e do alto custo do sequenciamento completo do genoma viral por NGS, pesquisadores do CV e do CLR-Santos decidiram desenvolver um protocolo com base na tecnologia tradicional de sequenciamento de SANGER, buscando sequenciar 95% do gene *S*, e assim detectar mutações características desta variante viral (assinatura molecular) e de outras que poderiam surgir. Usando produtos amplificados em duas reações de n-PCR, foi possível sequenciar 3.785 pares de base do gene *S* e detectar a assinatura molecular da variante P.1 em dois de 11 casos de COVID-19 analisados. Ainda, outras mutações foram encontradas e desta forma foi sugerido que a tecnologia SANGER poderia ser usada em países com poucos recursos financeiros e/ou em outros países na triagem de casos suspeitos de VOCs e VOIs.⁴⁵

Vale aqui ressaltar que o surgimento de variantes virais decorre de um processo adaptativo/evolutivo do vírus ao seu hospedeiro, e que as substituições de nucleotídeos que conferem vantagens aos vírus, como evasão imune e resistência a anticorpos neutralizantes, são incorporadas. Nesse sentido, a mutação E484K que emergiu na região S do genoma de SARS-CoV-2 de forma independente em múltiplas linhagens espalhadas pelo mundo como nas VOCs P.1 (brasileira), B.1.351 (sul africana) e B.1.1.7 (Reino Unido), também foi detectada nas VOIs P.2 e N.9 no Brasil, que evoluíram, respectivamente, das linhagens B.1.1.28 e B.1.1.33.^{35-40,42-46}

Outro trabalho extremamente importante e que explica a maior transmissibilidade da variante P.1 foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do CIM junto ao Laboratório de Termodinâmica da Universidade Estadual de Campinas. Usando sequências das variantes P.1 identificadas nas cinco regiões geográficas do Brasil depositadas no GISAID e sequência padrão de Wuhan² e ferramentas de predição de estrutura terciária, estabilidade e flexibilidade de proteínas, com ênfase à região de ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira, os pesquisadores verificaram que em pontos onde ocorreram mutações genômicas com troca de aminoácidos, houve aumento de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas na proteína *spike* da variante P.1, conferindo maior rigidez à molécula, ou seja, menor flexibilidade e maior estabilidade de ligação do *receptor-binding domain* ao ACE-1.⁴⁷ Estudos desta natureza são importantes para avaliar imunogenicidade, para a produção de vacinas e o desenvolvimento de drogas.

Outra área em que o sequenciamento é de extrema importância diz respeito ao conhecimento das possíveis causas de “falha vacinal”. Nesse sentido, um estudo recente conduzido por pesquisadores do LEIAL, CIM e CRR mostrou que 20 pessoas vacinadas desenvolveram sintomas graves de COVID-19 (n=10) ou foram a óbito pela doença (n=10).⁴⁸ Em 19 delas foi detectada a VOC P.1 (gamma), e em um caso a VOC B.1.1.7 (alpha). Curiosamente houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0.0232$); sendo que naqueles que adoeceram, a média de idade foi de 54,7 anos, e nos que foram a óbito, 74,3 anos. Os fatores de risco relacionados a esses casos foram: idade, local de residência e local/tipo de trabalho. Assim, trabalhadores da saúde de prontos socorros e ambulâncias com menos idade predominaram entre os casos graves, e idosos que residiam em asilos entre os óbitos. A quase totalidade dos casos havia sido vacinada com a CoronaVac, período em que esta vacina predominou no esquema de vacinação no Estado de São Paulo. Esses dados não significam que a vacinação não foi eficaz, mas sim que, pessoas que manipulam ou estão em contato íntimo com pessoas infectadas por SARS-CoV-2, e aquelas que vivem em locais fechados e que estão em imunossenescência podem adquirir a COVID-19 mesmo vacinadas. Portanto, as medidas de prevenção como:

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

uso de máscaras, higienização das mãos, manter locais de trabalho e residência arejados, evitar aglomerações e usar álcool gel, devem ser mantidas mesmo após a vacinação.⁴⁸ Este estudo confirmou a variante P.1 (gamma) como sendo mais transmissível e patogênica, corroborando estudos anteriores,^{7-9,48} e corrobora a adoção da administração de dose de reforço vacinal nestas populações.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora não sendo o enfoque deste trabalho, pesquisas relacionadas ao diagnóstico sorológico da COVID-19 também foram conduzidas e publicadas durante esta pandemia por pesquisadores do IAL.⁴⁹⁻⁵² Outras se encontram em andamento ou em processo de revisão por pares. Muitos dados vêm sendo gerados e a falta de tempo para análise e de recursos financeiros tem dificultado sua divulgação.

O apoio da Diretoria Geral e de todas as Diretorias, Centros e Núcleos que compõem o IAL foram e são de fundamental importância para a realização dos trabalhos de rotina e pesquisas relacionadas à COVID-19. Após um ano e meio de pandemia, mais de um milhão de exames de diagnóstico molecular foram realizados, e mais de 2.000 sequências foram depositadas no GISAID.

Por fim, nesse cenário abrangendo um ano e meio de pandemia, o IAL cumpriu sua missão: (i) realizou ensaios de alta complexidade para a Vigilância Epidemiológica; (ii) realizou pesquisa científica e inovação tecnológica de interesse em Saúde Pública; (iii) e formou recursos humanos especializados para laboratórios de interesse à Saúde Pública.

6. GRUPO DE TRABALHO IAL COVID-19 (FORÇA-TAREFA)

Centro de Virologia

Adriana Jorge, Adriana P. Compri, Adriana Y. Maeda, Ana Lucia C. Avelino, Ana Maria S. Afonso, Andreia F. Neves, Andressa Mathias, Audrey C. Chirelli, Bráulio C. Machado, Carla F. Figueiredo, Cibele D. Ribeiro, Cilene G. Proença, Clóvis R. A. Constantino, Cristina S. Lopes, Daniela B. B. Silva, Daniele Damasceno, Edson A. Andrade, Elda F. Afonso, Fabiana C. Pereira dos Santos, Fernanda G.S. Vasami, Gabrielle Brok, Gisele I. S. L. Lopes, Heloisa R. Vieira, Jaqueline Santos, Jucimara Silva, Katia C. O. Santos, Lia L. G. Cunha, Lincoln Spinazola do Prado, Ludia B. Leite, Luis Claudio S. Lima, Luis F. Macedo Brigido, Maira M.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Birochi, Marcia C. T. Silva, Marcilio F. Lemos, Margarete A. B. Pinho, Maria de Fatima de Jesus, Maria do Carmo S. T. Timenetsky, Mariucha C. Barbosa, Mayara R. M. Alves, Nilceia L. R. Arruda, Nilva M dos Reis, Paula S. Lima, Ramilson Cardoso, Regina C. Moreira, Rita A. Paschoalin, Rita de Cassia C. Carmona, Roberta H. C. R Vitorino, Rodrigo F. Barros, Sarai J. S. Silva, Simone G. Morillo, Stephanie Kirstein, Terezinha Maria de Paiva, Vanessa C. M. Silva, Vanessa Veras, Zelia Santos.

Centro de Imunologia

Adele Caterino-de-Araujo, Adriana Pardini Vicentini, Alonso Fernandes, André Rodrigues de Campos, Andreia Ribeiro C. Cardoso, Carlos Roberto Prudencio, Carmem Aparecida de F. Oliveira, Cyro Alves de Brito, Edilene Peres Real da Silveira, Elaine Aparecida Roma de Paula, Elaine Lopes de Oliveira, Elenice Madalena dos Santos, Elizabeth N. De Gaspari, Fábio Takenori Higa, Josefa Maria da Hora Silva Lima, Julianne Caravita Grisolia, Julio Cirullo Neto, Lourdes Rehder de A. Vaz de Lima, Lucila Okuyama Fukasawa, Márcia Jorge Castejon, Maria Gisele Gonçalves, Marisa Ailin Hong, Maristela Marques Salgado, Mayra Caroline da Silva Ferreira, Natalia Isola Alduini, Neusa Satomi Sato, Patricia Del Angelo, Paula Ordonhez Rigato, Raquel dos Anjos Fazioli, Rosemeire Yamashiro, Suely de Souza Guerreiro, Suely Sanae Kashino, Talita Silva Mota, Thainá Rocha Teixeira, Vanessa Cristina Barbosa, Vanilse Lopes Torres, Vasco Gouveia Santos.

Centro de Bacteriologia

Ana Paula Silva de Lemos, Andréia Rodrigues de Souza, Angela Pires Brandão, Aparecida da Consolação Omura, Ariane Aparecida Vilhalba, Carlos Henrique Camargo, Conceição de Maria S Santos Alves, Daniela Leite, Eliete Caló Romero, Erica Chimara Silva, Fernanda Cristina dos Santos Simeão, Gina Ploeger Mansueli, Helen Caroline Nantes, Jaqueline Alves Delprete, Juliana Cristina Pereira, Juliana Failde Gallo, Juliana Maira Watanaabe Pinhata, Kelli Buosi, Lilian Beserra Santos, Lucilaine Ferrazoli, Luís Fernando dos Santos, Maria Cristina de Cunto Brandileone, Maria de Fátima dos Santos Silva, Maria Helena Costa Cavalcante, Maria Luiza Leopoldo e Silva Guerra, Maria Vaneide de Paiva B. dos Santos, Marlon Benedito Nascimento Santos, Marta Galhardo, Monique Ribeiro Tiba Casas, Raella Biocuzzi Carone, Ricardo Polatto, Roberta Morozetti Blanco, Rosangela Siqueira de Oliveira, Rosemeire Capoani Almendros, Rosemeire Cobo Zanella Ramos, Samanta Cristine Grassi Almeida, Sandra Regina S. Pinheiro, Selma Alves de Sousa, Sérgio Bokermann, Sonia Maria da Costa, Tarcilla Corrente Borghesan, Thiago Lima Melo, Ueslei José Dias.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

Centro de Parasitologia e Micologia

Ana Rita de Toledo Piza, André Gustavo Tempone Cardoso, Camila da Silva Nivardo, Dulcilena de Matos Castro e Silva, Gabriel Manzi Oliboni, Gabriela Motoie, Ingrid Quevedo Wanichi, Jefferson Sabino Rodrigues, José Eduardo Tolezano, Katia Gomes Castelão, Kelly Siqueira de Souza, Leyva Cecília Vieira de Melo, Lilian Muniz Camilo, Lucas Xavier Bonfietti, Maria Margarete de Souza, Marisa de Jesus de Castro Lima, Miriam Rando Araújo, Murillo Mariano de Moura, Vera Lúcia Pereira Chioccola.

Centro de Patologia

Amaro Nunes Duarte-Neto, Ana Carolina Apelle Bortolucci, Ana Carolina S. Ramos de Carvalho, Aparecida Andrade Pereira, Bruna D. C. Rodrigues, Camila Santos da Silva Ferreira, Cinthya dos Santos Cirqueira Borges, Cristiane Henrique Oliveira, Cristiani Martinez Salzone, Cristina Takami Kanamura, Daniela Etlinger Colonelli, Eliane Margareth Pimenta Carneiro, Fernanda Ducatti, Gleise da Silva Belizario, Hyndyrah Negri Rodrigues Sodré, Jerenice Esdras Ferreira, Juliana Alves Garcia, Juliana Mariotti Guerra, Juliana Possatto F. Takahashi, Karen Miguita, Ketlyn Boschini Figueiredo, Leonardo José Tadeu de Araujo, Lidia Midori Kinamura, Magda Almeida Montalvão, Marilena Oshiro, Pamela Vieira de Moura Leal, Patricia Souza Gonçalves, Regina Maria Catarino, Sandra Lorente, Sonia Maria Pereira de Oliveira, Thaís de Souza Lima, Vitalina da Silva Santos.

Centro de Procedimentos Interdisciplinares

Adriana Villalva, Amanda Siena dos Santos, Ana Paula Cassiolato, C ssio Eduardo de Oliveira, David Richard Rodrigues Bernardes, Eduardo Tadeu Amancio Silva, Elizabeth Harummy Takagi, Filipe Teles Perez, Gabriela Bert o Rodrigues Alves, Grazielle Karina dos Santos Carrasco, Isabelle Dias de Oliveira, José Adão Alves Afonso, Julia Nathalia Alves da Costa, Julia Taeko Utiyama Yoshida, Juliana Aparecida de S  Fernandes, Katie Cristina Takeuti Riciluca, Leonice Sabine de S  Fernandes, L gia Maria Bozzoli, Mario F. de Medeiros Filho, Nathalia de Fatima da Silva Souza, Nayara da Silva Antonio, Ricardo Cecílio, Tamires Santos de Arruda, Tânia Sueli de Andrade, Vanessa Nieri Zanelatto

Centro de Alimentos

Alcina Maria Liserre, Cecília Geraldine Martins, Christiane Asturiano Ristori Costa, Damaris de Castro Pinto, Laís Fernanda de Pauli-Yamada, Maria Aparecida de Moraes Marciano, Ruth Estela Gravato Rowlands.

Centro de Respostas Rápidas

Adriano Abbud, Alana dos Santos Dias, Andrea de Fátima Neves, Assima Tinani, Caio Vinícius Dias Lopes, Camila Aparecida Leme dos Santos, Camila Vieira Pereira, Claudia Regina Gonçalves, Claudio Tavares Sacchi, Efraim Freitas de Assis, Erica Valessa Ramos Gomes Pagnoca, Igor Valdomiro dos Santos, Isabella Cerqueira Gicirani, Karoline Rodrigues Campos, Luis Gustavo dos Santos, Marilene Rodrigues Costa, Nuria Borges da Luz, Patricia Mara Abreu, Paulo Cezar G da Conceição, Rafael Gomes da Silva, Sueli Lima Melo, Taline Cristina Massaioli Alves.

Diretoria Geral

Adriana Bugno, Amanda dos Santos Miliatti, Carlos Augusto de Oliveira Aranha, Claudia Patara Saraceni, Flavia de Jesus Monteiro, Gilson Ribeiro Pires dos Santos, Givaldo Cavalcanti Bezerra.

CLR Araçatuba

Amanda Soares Alves, Bárbara Braga Ferreira Marta, Bruno Fabiano de Camargo, Celso Cesar Sabino, Doralice da Silva Pires, Edson Moreira Vieira, Eliana Bravo Calemes, Eluiza Mendes dos Santos, Fumiko Miyashita Murai, Juliana Galéra Castilho Kawai, Lucas Hideki Kikuti, Marcia Regina Bordin, Mayara Riguetti Rizzato, Renato Vaz Evangelista, Roseli Aparecida Neves Silva, Simone Valentim Ramos Menegate, Teresa Marilene Bronharo.

CLR Bauru

Adriana Bernadete Pintto Calero, Adriana Pensuti, Adriana Salvaterra de Castilho, Anelise Salina, Cristiana Bombarda de Andrade, Jean Carlos Garcia, Kaio Henrique Luizetti de Almeida, Leticia Tsieme Gushi, Luciana da Silva Ruiz Menezes, Luiz Adalberto Murça Junior, Virgínia Bodelão Richini Pereira, Wesley José dos Santos.

CLR Campinas

Ananda Hevelym Bueno, Carmen Sílvia Teixeira Botelho, Cleide Marques Ferreira, Edimilson Ferreira Lima, Eduardo Yuichi Yochida, Leandro Hideki Ynoue, Maria Cristina Cacciatori de Jesus, Marie Okino Mitue, Michele Rodrigues do Nascimento, Míriam Krahenbuhn, Natália Manuela S. Lourencetti, Stéphanie Zagui Ruivo, Taíse M. C. de Moraes Barbosa, Thalita Mara de Carvalho Perri, Vanessa da Silva Cardoso.

CLR Marília

Alcides Ribeiro Batilani, Alice Maria Gelsi, Aline Pereira da Silva, Camila Reis Santos Guermandi, Daniel Contiero Battistam, Denilson Rhemann Mendonça, Doroti de Oliveira Garcia, Ednéia de Almeida Molina, Erli Rosa Martins Miranda, Geni Maria de Mello, Jaqueline S. Balmant de Sousa, Juliano Kohle, Laís Solha Gomes, Laura Denise Mendes da Silva, Maristela Muros dos Santos, Stephanie Garcia Lima.

CLR Presidente Prudente

Alini Cristina Mariano Silva, Angelino Ferreira Capistano, Diego Fernando de Souza, Diogo Gomes de Lima, Erika Kushikawa Saeki, Esperdina Silva de Paula Foltran, Fabiana Afanani Nogueira, Lorryne Martins de Moraes, Luís Eduardo de Francisco, Lusinete Bernardo da Costa Silva, Maria Aparecida da Silva Trindade, Maria Helena Salomé, Maria Lucia de Castro, Maria Luiza Corazza, Mariza Menezes Romão, Marta Xavier Alfredo Aquino, Renata Ortega S. de Francisco, Rosenilda Bento Martin, Shioko Mizusaki, Thais Tafner Silva Vieira, Vera Lucia Parpinelli Silva, Vinícius Augusto de Souza Cruz.

CLR Ribeirão Preto

Adalice Guedes de Oliveira, Ana Paula Luchetta Pais, Andreia Frigeri, Cacilda Rosa Cardoso da Silva, Cândida Cristina de Souza, Eloisa Fonseca Del Tedesco, Emily Colferai Bonfá, Guilherme Silva Serafim, Hugo Maistrello Torres Lima, Jucélia Cristina dos Santos Sales, Junio César de Faria, Laércio Cândido, Lia Carmem Monteiro da Silva Zerbini, Lilia Adriana Carneiro, Lorena Garcia, Luiza Keico Tanimoto Algarte, Madalena Hisako Tanimoto Okino, Manoel Tadeu de Carvalho Martins, Márcia Aparecida Martins Villela, Marco Antonio Moreira Souto, Maria Helena Iha Matias, Marina Miyuki Okada, Marina Von Atzingen dos Reis, Natália Chierentin Gonçalves Dantas, Nathalia Oliveira Sgarbosa, Nilson Romão da Silva, Norma Rosa Alves, Renata da Silva Ferreira, Silvia Helena Chinarelli Reche, Sonia de Paula Toledo Prado, Tatiane Aparecida Andreozi.

CLR Rio Claro

Andressa Alves de Almeida Cruz, Antonio Barcellos A Fontanella, Dina Maria Joaquim Pereira, Elisangela Fernandes dos Santos, Emygdio de Paula Neto, Gisele Cristina M. Santo Pedro, Jefferson Poles Felipuci, Kaizer José Ferreira Alves, Karina Novelli Biasott, Leticia Rocha Gonçalves, Maria Cecília Hitomi K. F Silva, Maria Celia Satiko Kuzuoka Bueno, Regina Cely Tavares, Silvia Regina Varella.

CLR Santo André

Adriana Gomes da Silva, Akemi Oshiro Guirelli, Ana Paula da Cunha Gonçalves, Andréia Moreira dos Santos Carmo, Antonio Pereira da Silva Filho, Carmelita Selles de Souza, Daniela Rodrigues Colpas, Delma Aparecida Molinari, Elaine Cristina de Mattos, Flavia de Carvalho, Gabriel Henrique Gomes Caroccia, Gabriela de Carvalho Gonçalves, Itatiana Ferreira Rodart, Ivana Barros de Campos, Maranice Cesário, Maranice Cesário, Maria Cecília Cergole Novella, Maria Clarice Pereira da Silva, Maria Julia Lima Lopes, Patrícia de Lima Vicente, Paula Jimena Segura Ramirez, Rute Dal Col, Valéria dos Santos Cândido, Vilma dos Santos M. Gaiotto Daros.

CLR Santos

Ana Carolina Chiou Nascimento, Ana Ruth Pereira de Mello, Andre Luis Monteiro Araujo, Andrea Gobetti C. Bombonatte, Assuscena M. Rodrigues Xavier, Carlos Roberto da Silva, Carmen Medeiros Moreira, Gabriela Bastos Cabral, Isabel da Cruz Silva, Ivy de Jesus Alves, Mirella Massonetto Basilio, Natasha dos Santos N. Soares, Paulo Roberto Marchesoni Pontes, Victoria Santos de Oliveira, Yasmim Annunciato.

CLR São José do Rio Preto

Ana Paula Lemos, Diolalila Rodrigues Nogueira, Fernanda Modesto Tolentino, Janaína Olher M. Montanha, Jaqueline Calça Assis, João Caetano Filho, Licia Fernanda Mangile, Márcia M. C. Nunes Soares, Maricélia Navarro Pinheiro Flores, Michelley Tenório, Otávio da Mata Cunha, Regiane C. H. Castilho, Rita de Cássia Hidaka, Rosa M. Zini.

CLR Sorocaba

Alessandra Aparecida Alves, Aline Bonifácio da Luz, Aparecida Helena de Souza Gomes, Ariane de Fatima Barbosa, Breno de Oliveira Filho, Bruna Evelyn Viana, Cleusa Aparecida Silva, Débora Fernanda P Pavani, Edith Veiga Tavares, Fabiana Beltran, Fabio Alexandre Melo Oliveira, Fabio Hiroto Shimabukuro, Guilherme Augusto Santos Roque, Jose Henrique Pena, Jose Renato de Moraes, Laura Medici Tavares, Luciana Rodrigues Mota, Luiz Roberto Foramiglio, Maria de Fatima Pereira Antunes, Maria de Lourdes M. Shikama Gomes, Nicolas Alves Faccinelli, Paula Sanches dos Santos, Rafael Veiga Tavares, Roberta Tavares de Lacerda, Rosiani Aparecida Volponi, Sandra Regina dos Santos.

CLR Taubaté

Aline Grazieli Silva Marcondes, Andrea Rezende Leite, Célia Regina Santos Santana, Cláudia Santos, Daniel Costa, Fabiane Picchetti Ferraz, Fábio Bardella, Fernanda Auxiliadora Guimarães, João Luiz Toledo, José Carlos Antunes de Souza, José Dolores de Carvalho Neto, Karen Cristine Pavan Rocha, Kathleen Maria dos Santos Tobias, Kátia Regina M. de Freitas Martins, Leonel Fávaro, Márcio K G Inumaru, Marilena Fogaça de Souza Soares, Paula Cristina Siqueira L. Monteiro, Paulo Ribeiro de Carvalho Neto, Regina Lucia da Silva Costa, Renato Pereira de Souza, Rossana Pelogia, Selma Leide Fonseca de Paula, Vanessa Alves Cândido, Wladimir Leme dos Santos

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

7. AGRADECIMENTOS

À Dra. Adriana Bugno, Diretora Técnica de Saúde III, Instituto Adolfo Lutz (IAL), pela confiança e apoio constantes, e pelo envio da relação de pessoas envolvidas nos estudos relacionados à COVID-19 do Laboratório Central e dos 12 Centros de Laboratórios Regionais do IAL. Ao Dr. Adriano Abbud, Diretor do Centro de Respostas Rápidas, pela elaboração dos Boletins de Monitoramento do SARS-CoV-2 indispensáveis para a redação de parte deste manuscrito.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Ton Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel Coronavirus–infected pneumonia. *N Eng J Med*. March 26, 2020;382(13):1199-207. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001316>
2. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579:265-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2008-3>
3. Wit E, Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Rev Microbiol*. 2016;14:523-34. doi:10.1038/nrmicro.2016.81 Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.81.pdf>
4. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Geneva: WHO; 2020 [acesso em 11 Fev 2020]. Disponível em: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
5. World Health Organization. WHO. WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet] WHO; 2020 [acesso em 11 Mar 2020]. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>

6. World Health Organization. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. WHO; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: <https://covid19.who.int/>
7. Souza FSH, Hojo-Souza NS, da Silva CM, Guidoni DL. Second wave of COVID-19 in Brazil: younger at higher risk. *Eur J Epidemiol.* 2021;36(4):441–3. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10654-021-00750-8>.
8. Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, et al., Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV- 2 lineage in Manaus, Brazil. *Science.* 2021 May 21;372(6544):815–2. DOI: 10.1126/science.abh2644. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/372/6544/815/tab-pdf>
9. Freitas ARR, Lemos DRQ, Beckedorff OA, et al. The increase in the risk of severity and fatality rate of covid-19 in southern Brazil after the emergence of the Variant of Concern (VOC) SARS-CoV-2 P.1 was greater among young adults without pre-existing risk conditions. [acesso em 19 Abr 2021] *MedRxiv preprint.* Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.04.13.21255281>
10. Brasil. Ministério da Saúde. Painel Coronavirus 11/07/2021 [Internet]. Ministério da Saúde, Brasília, DF; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
11. Cidade de São Paulo Saúde - Boletim Diário COVID-19, 11/07/2021, Edição 472 [Internet]. Prefeitura de São Paulo, SP; 2021 [acesso em 11 Jul 2021]. Disponível em: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/20210711_boletim_covid19_diario.pdf
12. Vashist SK. 2020. In vitro diagnostic assays for COVID-19: recent advances and emerging trends. *Diagnostics* 10:202. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10040202>
13. Costa EAS, Oliveira ACS, Costa MSF, Ribeiro FPC, Carneiro DO, Martins RA, Amorin CF, Brito AC, Caterino-de-Araujo A. Ensaios de RT-qPCR para detecção de SARS-COV-2: vantagens, limitações e perspectivas. In: Sousa, Anderson Reis de. COVID-19: conhecimento baseado em evidências e soluções criativas/sustentáveis no enfrentamento. Piracanjuba-GO: Editora Conhecimento Livre; 2020. p.385–98. DOI 10.37423/200701759
14. Kubina R, Dziedzic A. Molecular and serological tests for COVID-19. A comparative review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and point-of-care diagnostics. *Diagnostics.* 2020;10:434. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060434>
15. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):747-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1745095>
16. Venter M, Richter K. Towards effective diagnostic assays for COVID-19: a review. *J Clin Pathol.* 2020;73(7):370–7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206685>

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

17. Li C, Zhao C, Bao J, Tang B, Wang Y, Gu B. Laboratory diagnosis of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Clin Chim Acta*. 2020;510:35-46. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.045>
18. Novo Coronavírus - Diagnóstico Implantado. Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2020. Fev 2020. 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
19. SARS-CoV-2 Coronavirus - Genomic Reports. Nuno_Faria. First cases of coronavirus disease (COVID-19) in Brazil, South America (2 genomes, 3rd March 2020). Disponível em: <https://virological.org/t/first-cases-of-coronavirus-disease-covid-19-in-brazil-south-america-2-genomes-3rd-march-2020/409>
20. Jesus JG, Sacchi C, Candido DS, Claro IM, Sales FCS, Manuli ER, et al. Importation and early local transmission of COVID-19 in Brazil, 2020. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2020;62:e30. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202062030>
21. Emery SL, Erdman DD, Bowen MD, Newton BR, Winchell JM, Meyer RF, et al. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for SARS-associated coronavirus. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(2):311–6. doi:10.3201/eid1002.030759. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/2/03-0759_article
22. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000045. Disponível em: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
23. Lopez-Lopes GIS, Ahagon CM, Bonega MA, Santos FP, Santos KCO, Cilli A, et al. Throat wash as a source of SARS-CoV-2 RNA to monitor community spread of COVID-19. medRxiv Posted August 01 2020, Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.07.29.20163998>
24. Lopez-Lopes GI, Carmona RCC, Silva VO, Ahagon CM, Prado LS, Santos FP, et al. SARS-CoV-2 RNA detection using pooling of self-collected samples: Simple protocol may foster asymptomatic surveillance. medRxiv Posted Oct 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.10.05.20205872>
25. Campos KR, Sacchi CT, Gonçalves CR, Pagnoca EVRG, Dias AS, Fukasawa LO, Caterino-de-Araujo A. COVID-19 laboratory diagnosis: Comparative analysis of different extraction methods for SARS-CoV2 detection. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 2021;63:e52. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202163052>
26. Fukasawaa LO, Sacchi CT, Gonçalves MG, Lemos APS, Almeida SCG, Caterino-de-Araujo A. Comparative performances of seven quantitative Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction assays (RT-qPCR) for detecting SARS-CoV-2 infection in samples from individuals

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

- suspected of COVID-19 in São Paulo, Brazil. *J Clin Virol Plus*. 2021;1:100012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcvp.2021.100012>
27. Mattos EC, Matsuda EM, Colpas DR, Carvalho F, Carmo AMS, Daros VSMG, et al. Can urine be a potential biohazard in times of SARS-CoV-2 pandemic? *J Med Virol*. 2020;1–3. doi: 10.1002/jmv.26616 Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.26616>
 28. Matsuda EM, Campos IB, Oliveira IP, Colpas DR, Carmo AMS, Brígido LFM. Field evaluation of COVID-19 antigen tests versus RNA based detection: Potential lower sensitivity compensated by immediate results, technical simplicity, and low cost. *J Med Virol*. 2021; 1-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.26985>
 29. Duarte-Neto AN, Caldinia EG, Gomes-Gouvea MS, Kanamura CT, Monteiro RAA, Ferranti JF, et al. An autopsy study of the spectrum of severe COVID-19 in children: From SARS to different phenotypes of MIS-C. *E Clinical Medicine*. 2021;35:100850. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100850>
 30. Matuck BF, Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, Maia G, Gomes SC, Sendyk DI, et al. Salivary glands are a target for SARS-CoV-2: a source for saliva contamination. *J Pathol* 2021; 00: 000–000 Published online 21 May 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/path.5679>
 31. Camargo, Carlos Henrique; Gonçalves, Claudia Regina; Pagnoca, Erica Valessa Ramos Gomes; Campos, Karoline Rodrigues; Abbud, Adriano; Bugno, Adriana; et al. Um ano de pandemia da COVID-19: diversidade genética do SARS-CoV-2 no Brasil. [cited 2021 April 14]. *BEPA – Boletim Epidemiológico Paulista* 2021;18(207):12-33. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/BEPA182/issue/view/2591/308>
 32. Sars-cov-2: monitoramento – Linhagens circulantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Jan 2021 (1). 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 33. Sars-cov-2: monitoramento – Linhagens circulantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Fev 2021. 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 34. Sars-cov-2: monitoramento – Operação Acolhida. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Fev 2021 (2). 2 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>
 35. Sars-cov-2: monitoramento - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Mar 2021. 9 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1150966>
 36. Sars-cov-2: monitoramento atualizado em 29 mar 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz São Paulo; SES/SP; 2021. 13 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1152004>

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A

37. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 4 abr 2021- Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 15 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1152239>
38. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 27 abr 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1224434>
39. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 1 de maio 2021- Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1222336>
40. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 21 de maio de 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1224553>
41. Sars-cov-2 monitoramento maio 2021 - Detecção de Variantes. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 2 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1247483>
42. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 5 de junho 2021 - Vigilância Epigenômica. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1252760>
43. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 14 de junho de 2021 - Vigilância Epigenômica. Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1253068>
44. Sars-cov-2 monitoramento atualizado em 18 de junho de 2021 - Vigilância Epigenômica. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; SES/SP; 2021. 21 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/ses/resource/pt/biblio-1253347>
45. Cabral GB, Ahagon CM, Lopez-Lopes GIS, Hussein IM, Guimaraes PM, Cilli A, et al. P1 variants and key amino acid mutations at the Spike gene identified using Sanger protocols. medRxiv Posted March 24, 2021, doi: Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.03.21.21253158>
46. Resende PC, Gräf T, Paixão ACD, Appolinario L, Lopes RS, Mendonça ACF, et al. A Potential SARS-CoV-2 Variant of Interest (VOI) Harboring Mutation E484K in the Spike Protein Was Identified within Lineage B.1.1.33 Circulating in Brazil. Viruses. 2021, 13:724. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13050724>
47. Santos FRS, Azevedo MSP, Bielavsky M, Costa HHM, Ribeiro DG, Nascimento GG, et al. Mutational Profile of SARS-CoV-2 Spike Protein in Brazilian isolates. Research Square, Disponível em: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-402349/v2/14b4e5b9-53dc-4c41-8f67-dbed4179099b.pdf>

48. Campos KR, Sacchi CT, Abbud A, Caterino-de-Araujo A. SARS-CoV-2 variants in severely symptomatic and deceased persons who had been vaccinated against COVID-19 in São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2021;45:e126. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2021.126>
 49. Matsuda EM, Santos AS, Castejon MJ, Ahagon CM, Campos IB, Brígido LFM. COVID-19 in children: a case report of Multisystem Inflammatory Syndrome (MIS-C) in São Paulo, Brazil. *The Brazilian J Infect Dis*. 2020;24(6):580-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.09.002>
 50. Silva VO, Oliveira EL, Castejon MJ, Yamashiro R, Ahagon CM, López-Lopes GI, et al. Prevalence of antibodies against SARS-CoV-2 in professionals of a public health laboratory at São Paulo, SP, Brazil. *medRxiv* October 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2020.10.19.20213421>
 51. Gaspar EB, De Gaspari E. Avidity assay to test functionality of anti-SARS-Cov-2 antibodies. *Vaccine*. 2021;39:1473-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.003>
 52. Moura A, Costa HH, Correa V, Lima AK, Lindoso JA, Gaspari E, et al. Assessment of avidity related to IgG subclasses in SARS-CoV-2 Brazilian infected patients. *Scientific Reports*. 2021;11:17642. Disponível em <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95045-z>
-

Correspondência/Correspondence to:

Adele Caterino-de-Araujo
Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo, 351, 11º andar, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 01246-000.
Telefone (11) 30682898.
E-mail: adele.caterino@ial.sp.gov.br.

O Instituto Adolfo Lutz na pandemia COVID-19:
Experiência no diagnóstico molecular e vigilância de SARS-CoV-2/Caterino-de-Araujo A