

Dengue, ou quadros de encefalite de gravidade variável que pode causar a morte. **Objetivo.** Padronizar a técnica de reação em cadeia da polimerase precedida da transcrição reversa (RT-PCR) como método de diagnóstico específico para alfavírus intensificando o monitoramento desses vírus. **Material & métodos.** Amostras de alfavírus isolados pelo IEC e liofilizadas foram hidratadas e inoculadas em camundongos recém-nascidos para verificação da viabilidade. Em seguida, preparou-se suspensão de cérebro a 20 % em albumina bovina e inoculou-se em cultivo celular VERO para observação do efeito citopatogênico (ECP). A confirmação da infecção foi feita utilizando-se o teste de imunofluorescência indireta com soros contendo anticorpos monoclonais para os alfavírus. Na titulação das amostras foi realizado o teste de plaqueamento utilizando na etapa final a coloração pelo violeta de genciana. O RNA viral foi extraído pelo Kit QIAamp Viral RNA e pelo método fenol-clorofórmio. A mistura da RT continha 8µL do RNA e complementados para 20µL com tampão, dNTPs, oligonucleotídeo, inibidor de RNA, transcriptase reversa e água. A mistura da PCR continha 8µL do cDNA completando para 50µL com tampão, dNTPs, MgCl₂, oligonucleotídeos, Taq polimerase e água. Fez-se ainda uma Semi-nested PCR se utilizando o mesmo volume e os mesmos reagentes com exceção do oligonucleotídeo. Os produtos obtidos foram observados em gel de agarose 1.2% corado por brometo de etídio. Resultados. Foram selecionados 11 vírus de encefalites equínas, 5 das quais utilizando o macerado de cérebro e fluido celular, produziram na RT-PCR amplicons de tamanho ~ 434pb do gene nsP1. Diluições seriadas de razão 10 do vírus estoque (10^{7.4} unidade formadora de placas (PFU) /mL) provenientes de fluido celular e macerado de cérebro foram preparadas em PBS. O extrato de RNA de cada diluição foi submetido a RT-PCR e Semi-nested PCR. Amplicons de tamanho esperado foram visíveis na diluição 10⁻⁴ e 10⁻⁷, as quais corresponde a detecção limite 10^{3.4}PFU/mL para RT-PCR e 10^{0.4}PFU/mL para Semi-nested PCR. As diluições provenientes do fluido celular e macerado de cérebro apresentaram detecção limite similar. Foram negativos na RT-PCR 7 soros de pacientes com sorologia positiva para encefalites equínas e sintomatologia compatível. De um lote de mosquitos capturados em Portel, Estado do Pará, com isolamento de encefalite equína leste, se obteve RT-PCR positiva para alfavírus. Conclusão. Os resultados obtidos mostraram a padronização do teste de RT-PCR para uso no diagnóstico precoce e específico de alfavírus associados com encefalite. Numa próxima etapa, os produtos da PCR serão sequenciados para completar a caracterização molecular dos vírus, o que permitirá a identificação dos genótipos circulantes.

OV 25

ABORDAGEM SINDRÔMICA NA VIGÊNCIA DE SURTO DE DOENÇA RESPIRATÓRIA, EM UMA ÁREA URBANA DO BAIXO AMAZONAS NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL.

Samyr Cavalero; Wyller Melo; Gilberta Bensabath; Carmen Oliveira; Ana Pinto.

Instituto Evandro Chagas, Avenida Almirante Barroso 492, Cep: 66090-000, Marco, Belém. E-mail: samyrcavalero@iec.pa.gov.br

Introdução: As doenças respiratórias apresentam-se como causa importante de morbidade, sendo um fator comum de procura aos serviços de saúde. Em áreas de estações climáticas bem definidas, predominam nos períodos mais frios, enquanto em regiões tropicais, predominam nos meses onde o índice pluviométrico é mais elevado, ressaltando a importância de tais doenças na Amazônia, devido à ausência de estações climáticas bem definidas e a presença de um período chuvoso mais prolongado. A etiologia das doenças respiratórias é diversificada, podendo ter causas bacterianas, virais e fúngicas dentre outras e serem encontradas associadas ou isoladamente. Tais fatores ressaltam a necessidade de, na vigência de surtos onde a sintomatologia respiratória seja predominante, termos sempre que realizar estudos mais amplos, de aspectos sindrômicos, para termos um esclarecimento diagnóstico mais preciso e o estabelecimento de medidas preventivas ou curativas apropriados. **Objetivo:** Levantamento dos prováveis agentes etiológicos envolvidos no surto de doença respiratória, com a avaliação dos padrões clínico-epidemiológicos e aspectos radiológicos. **Material & Métodos:** Foi realizada uma expedição ao município de Santarém, no Baixo Amazonas - Pará, durante a vigência de um surto de síndrome respiratória em Março de 2004. Foram examinados os pacientes da demanda espontânea ao setor de Urgência/Emergência do Hospital Municipal de Santarém, que apresentavam além de febre, pelo menos dois ou mais dos seguintes sintomas: tosse, cefaléia, dispnéia, dor torácica, mialgias, artralgias, mal estar geral, odinofagia e coriza. Após tal seleção e de acordo com os aspectos clínicos e epidemiológicos anotados, eram então escolhidos os exames a serem realizados, como hemograma, isolamento viral da secreção nasal e de orofaringe dos pacientes que apresentavam até 05 (cinco) dias de evolução dos sintomas; cultura para detecção de *Bordetella pertussis*, em pacientes com aspectos clínico-epidemiológicos sugestivos de Coqueluche; sorologia para as arboviroses mais prevalentes na região ou isolamento viral para as mesmas de acordo com o período de evolução da doença. O exame radiológico de tórax foi realizado no próprio hospital em pacientes selecionados de acordo com a ausculta pulmonar, sendo tais exames posteriormente analisados por médico radiologista. Os dados foram anotados em formulário próprio e armazenados em banco de dados no EPI INFO 2002, e a partir destes realizadas análises estatísticas. **Resultados:** Foram atendidos durante a expedição, 126 pacientes sendo destes 65(52%) do sexo feminino e 61 (48%) masculino e todos submetidos ao hemograma. Deste total 79 (63%) pacientes realizaram exame para isolamento de vírus respiratório, sendo 44 (56%) negativo e 35 (44%) positivos. Dentre os estes, 16 (46%) eram do sexo feminino e 19 (54%) do sexo masculino. Os vírus mais frequentemente encontrados foram o Influenza A com 29 (83%), Vírus Respiratório Sincicial 3 (8%), Parainfluenza 1,2 e Vírus Respiratório Sincicial + Influenza A com apenas 1 (3%) caso para cada. A Faixa etária de 0 a 4 anos foi a mais acometida com 14 (40%) dos positivos. Não houve positividade nos 40 exames de cultura para *Bordetella pertussis*. Foram realizados 59 exames radiológicos dos quais 38 (64%) apresentavam-se normais e 22 (36%) apresentavam padrão intersticial de pneumonias. **Conclusão:** O surto apresenta predominantemente etiologia viral, não apresentando significância entre sexos e distribuído proporcionalmente entre faixas etária. A presença de vírus respiratório foi encontrada de maneira mais significativa em pacientes menores de 04 (quatro) anos de idade sendo como complicações mais comumente encontradas e documentadas, as pneumonias que acometiam principalmente os pacientes nos extremos de idade e que apresentavam mais de 07 (sete) dias de evolução da doença, tendo os mesmos a presença de tosse produtiva como principal sintoma.

OV 26

DETECÇÃO DO VÍRUS DENGUE EM *Aedes albopictus*

Cecílio, Alzira B.; Campanelli, Eliane S.; Souza, Kátia P. R.; Loures, Patrícia A. S.

Fundação Ezequiel Dias, DCPD, Lab. Microbiologia e Virologia Molecular, Rua Conde Pereira Carneiro, 80 - Gameleira - Belo Horizonte, Minas Gerais - Brazil. e-mail: alzira@funed.mg.gov.br

Introdução: A dengue é uma das doenças mais importantes causadas por arbovírus no mundo. É uma doença infecciosa aguda caracterizada por febre bifásica, dor de cabeça, dor em várias partes do corpo, prostração, exantema e linfadenopatia. O vírus dengue é sorologicamente classificado em quatro sorotipos antígenicamente distintos (DEN -1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4), estando classificados como um complexo dentro da família *Flaviviridae*.