

ESCOLA DE GUERRA NAVAL

CMG (Md) MARCELO LEAL GREGÓRIO

VIROSES EMERGENTES:

Análise da detecção molecular do SARS-CoV-2 no Hospital Naval
Marcílio Dias durante a pandemia de COVID-19

Rio de Janeiro
2024

ESCOLA DE GUERRA NAVAL

CMG (Md) MARCELO LEAL GREGÓRIO

VIROSES EMERGENTES:

Análise da detecção molecular do SARS-CoV-2 no Hospital Naval
Marcílio Dias durante a pandemia de COVID-19

Tese apresentada à Escola de Guerra
Naval, como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Política e
Estratégia Marítimas.

Orientador: CMG (RM1-IM) CHRISTIAN
ALEXANDER SHORT

Rio de Janeiro

2024

DECLARAÇÃO DA NÃO EXISTÊNCIA DE APROPRIAÇÃO INTELECTUAL IRREGULAR

Declaro que este trabalho acadêmico: a) corresponde ao resultado de investigação por mim desenvolvida, enquanto discente da Escola de Guerra Naval (EGN); b) é um trabalho original, ou seja, que não foi por mim anteriormente utilizado para fins acadêmicos ou quaisquer outros; c) é inédito, isto é, não foi ainda objeto de publicação; e d) é de minha integral e exclusiva autoria.

Declaro também que tenho ciência de que a utilização de ideias ou palavras de autoria de outrem, sem a devida identificação da fonte, e o uso de recursos de inteligência artificial no processo de escrita constituem grave falta ética, moral, legal e disciplinar. Ademais, assumo o compromisso de que este trabalho possa, a qualquer tempo, ser analisado para verificação de sua originalidade e ineditismo, por meio de ferramentas de detecção de similaridades ou por profissionais qualificados.

Os direitos morais e patrimoniais deste trabalho acadêmico, nos termos da Lei 9.610/1998, pertencem ao seu Autor, sendo vedado o uso comercial sem prévia autorização. É permitida a transcrição parcial de textos do trabalho, ou mencioná-los, para comentários e citações, desde que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos e ideias expressas neste trabalho acadêmico são de responsabilidade do Autor e não retratam qualquer orientação institucional da EGN ou da Marinha do Brasil.

AGRADECIMENTOS

À invicta Marinha do Brasil, pelas oportunidades e desafios proporcionados ao longo da minha carreira.

Ao meu orientador, CMG (RM1-IM) Short, pelas orientações precisas, disponibilidade e fidalguia.

Aos instrutores da EGN, em especial ao CF (RM1) Nagashima, cuja experiência e sabedoria foram fundamentais para me guiar durante essa travessia.

Ao Encarregado do C-PEM 2024, CMG (RM1) Sousa, pela competência e profissionalismo com que conduziu nosso curso.

Aos amigos da turma C-PEM 2024, pela honra e satisfação de compartilhar com vocês a experiência única deste ano.

E, por fim, agradeço a Deus por me conceder sabedoria, força e resiliência ao longo desta jornada. Agradeço também à minha amada família, meu porto seguro, pelo apoio incondicional, amor e compreensão, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Se um homem não sabe a que porto se dirige, nenhum vento lhe será favorável.

Sêneca

RESUMO

A pandemia da COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, evidenciou a vulnerabilidade da sociedade global às doenças infecciosas emergentes. Historicamente, pandemias como a gripe de 1918 e, mais recentemente, a COVID-19 demonstraram a capacidade devastadora desses patógenos. No Brasil, até 1º de agosto de 2024, foram registrados 712.769 óbitos devido ao novo coronavírus. O diagnóstico confirmatório da COVID-19 foi desafiador globalmente devido à falta de informação técnica e à escassez de insumos. O Hospital Naval Marcílio Dias, possuindo um instituto de pesquisas que já utilizava técnicas de biologia molecular, iniciou precocemente o diagnóstico molecular utilizando a técnica de RT-qPCR, considerada pela Organização Mundial da Saúde como o “padrão ouro”. Assim, o objetivo principal desta pesquisa foi analisar a detecção molecular do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2, realizada pelo Instituto de Pesquisas Biomédicas do Hospital Naval Marcílio Dias, durante a pandemia. A metodologia utilizada consistiu em pesquisa descritiva e qualitativa, empregando as técnicas de observação participante, pesquisa bibliográfica e entrevistas estruturadas. Dentre as principais conclusões deste trabalho, destaca-se que é praticamente unânime na comunidade científica que a ocorrência de uma nova pandemia é certa, sendo a temporalidade a única incerteza. Portanto, a preparação contínua e o fortalecimento das capacidades de diagnóstico molecular são essenciais para enfrentar futuras emergências de saúde pública. A pesquisa revelou que a infraestrutura necessária para a realização de testes moleculares e a capacitação adequada dos profissionais são essenciais para a detecção eficiente de viroses emergentes. A gestão do conhecimento também se mostrou vital para a adaptação rápida às novas demandas impostas pela pandemia.

Palavras-chave: Viroses emergentes, Diagnóstico molecular, RT-qPCR, Hospital Naval Marcílio Dias, Sequenciamento genético, Bioterrorismo, Sistema de Saúde da Marinha, Gestão do conhecimento.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic, caused by SARS-CoV-2, highlighted the global society's vulnerability to emerging infectious diseases. Historically, pandemics such as the 1918 flu and more recently, COVID-19, have demonstrated the devastating capability of these pathogens. In Brazil, as of August 1, 2024, there were 712,769 deaths due to the new coronavirus. The confirmatory diagnosis of COVID-19 was globally challenging due to a lack of technical information and scarcity of supplies. The Naval Hospital Marcílio Dias, with a research institute already utilizing molecular biology techniques, promptly initiated molecular diagnosis using the RT-qPCR technique, considered the "gold standard" by the World Health Organization. Therefore, the main objective of this research was to analyze the molecular detection of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 conducted by the Biomedical Research Institute of the Naval Hospital Marcílio Dias during the pandemic. The methodology used consisted of descriptive and qualitative research, employing participant observation, bibliographic research, and structured interviews. Among the main conclusions of this work, it is almost unanimous within the scientific community that the occurrence of a new pandemic is certain, with temporality being the only uncertainty. Thus, continuous preparation and strengthening molecular diagnostic capabilities are essential to face future public health emergencies. The research revealed that the necessary infrastructure for conducting molecular tests and adequate professional training is crucial for the efficient detection of emerging viruses. Knowledge management also proved vital for the rapid adaptation to new demands imposed by the pandemic.

Keywords: Emerging viruses, Molecular diagnosis, RT-qPCR, Naval Hospital Marcílio Dias, Genetic sequencing, Bioterrorism, Navy Health System, Knowledge management.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação esquemática do SARS-CoV-2.....	23
Figura 2 - Linha do tempo dos principais eventos da pandemia da COVID-19.....	24
Figura 3 - Distribuição dos casos de COVID-19 no Brasil.....	25
Figura 4 – Exemplo de alojamento de um Navio da MB (NaPaOc Amazonas).....	28
Figura 5 - Sala de extração de DNA/RNA do LabMol do IPB.....	39
Figura 6 - "Espiral do Conhecimento" de Nonaka e Takeuchi.....	48
Figura 7 - Distribuição das OMH por região geográfica.....	50
Figura 8- Percentual de OMH com infraestrutura para realizar testes de NAAT.	51
Figura 9- Hospitais da MB que realizam testes de NAAT.....	51
Figura 10 - Técnicas de NAAT realizadas no SSM.....	52
Figura 11 - Linha do Tempo do Diagnóstico Molecular da COVID-19 no SSM.....	53
Figura 12 – Distribuição dos Laboratórios Brasileiros da RESVIGEN.....	55
Figura 13 – Distribuição de reações de RT-PCR para COVID-19 por Estado.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	- Enzima conversora de angiotensina 2
ABRAMED	- Associação Brasileira de Medicina Diagnóstica
AIEA	- Agência Internacional de Energia Atômica
BioMol	- Laboratório de biologia molecular
CDC	- <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
cDNA	- DNA complementar
CLIA	- Quimioluminescência
CoV	- Coronavírus
COVID-19	- Doença do coronavírus-2019
CRISPR	- <i>Clustered regularly interspaced short palindromic repeats</i>
DNOG	- Divisão Naval em Operações de Guerra
DSM	- Diretoria de Saúde da Marinha
DTEP	- Direção Técnica de Ensino e Pesquisa
ECLIA	- Eletroquimioluminescência
EDM	- Estratégia de Defesa Marítima
ELISA	- <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
END	- Estratégia Nacional de Defesa
EPI	- Equipamento de proteção individual
ESPIL	- Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FAPERJ	- Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FDM	- Fundamentos Doutrinários da Marinha
FIOCRUZ	- Fundação Oswaldo Cruz
GISAID	- <i>International Global Initiative on Sharing All Influenza Data</i>
GISRS	- <i>Global Influenza Surveillance and Response System</i>
H1N1	- Vírus da gripe influenza A
H5N1	- Vírus influenza A
HCM	- Hospital Central da Marinha
HFA	- Hospital das Forças Armadas
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
HNBe	- Hospital Naval de Belém

HNBra	- Hospital Naval de Brasília
HNLa	- Hospital Naval de Ladário
HNMD	- Hospital Naval Marcílio Dias
HNNa	- Hospital Naval de Natal
HNRe	- Hospital Naval de Recife
HNSa	- Hospital Naval de Salvador
HPV	- <i>Human papillomavirus</i>
IAL	- Instituto Adolfo Lutz
IBEX	- Instituto de Biologia do Exército
ICTV	- Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
IEC	- Laboratório de Vírus Respiratórios do Instituto Evandro Chagas
INMETRO	- Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IPB	- Instituto de Pesquisas Biomédicas
LABINFO	- Laboratório de Bioinformática
LACEN	- Laboratório Central de Saúde Pública
LFIA	- Lateral Flow Immunoassay
LNCC	- Laboratório Nacional de Computação Científica
MB	- Marinha do Brasil
MD	- Ministério da Defesa
MERS	- Síndrome Respiratória do Oriente Médio
mRNA	- RNA mensageiro
NAAT	- Testes de amplificação de ácido nucleico
NB3	- Nível de biossegurança 3
NCBI	- National Center for Biotechnology Information
NIC	- <i>National Influenza Centre</i>
OMH	- Organizações Militares Hospitalares
OMS	- Organização Mundial da Saúde
OPAS	- Organização Pan-Americana da Saúde
PCR	- reação em cadeia da polimerase
PNCG	- Policlínica Naval de Campo Grande
PNMa	- Policlínica Naval de Manaus
PNNSG	- Policlínica Naval Nossa Senhora da Glória
PNRG	- Policlínica Naval de Rio Grande

PNSPA	- Policlínica Naval de São Pedro da Aldeia
POCT	- <i>Point of Care Testing</i>
RESVIGEN	- Rede Regional de Vigilância Genômica de COVID-19
RNA	- Ácido ribonucleico
RT-LAMP	- <i>Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification</i>
RT-PCR	- Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
RT-qPCR	- Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa quantitativa em tempo real
SARS-CoV-2	- Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2
SARS-CoV	- Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave
SARS	- Síndromes Respiratórias agudas severas
SNNF	- Sanatório Naval de Nova Friburgo
SSM	- Sistema de Saúde da Marinha
TRCOVID-19 Ag	- Teste rápido qualitativo para detecção de antígenos do vírus SARS-CoV-2
UFG	- Universidade Federal de Goiás
UFMG	- Universidade Federal de Minas Gerais
UFRJ	- Universidade Federal do Rio de Janeiro
UnB	- Universidade de Brasília
UNICAMP	- Universidade Estadual de Campinas
USP	- Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	VIROSES EMERGENTES	16
3	PANDEMIA DA COVID-19	19
3.1	MARINHA DO BRASIL	26
3.2	MARINHA DOS ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA.....	28
4	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19	30
4.1	TESTES RÁPIDOS (<i>LATERAL FLOW IMMUNOASSAY</i>)	30
4.2	IMNUOABSORÇÃO ENZIMÁTICA (ELISA) E QUIMIOLUMINESCÊNCIA (CLIA)	32
5	DIAGNÓSTICO MOLECULAR DO SARS-COV-2	34
5.1	INFRAESTRUTURA	37
5.2	CAPACITAÇÃO	42
5.3	GESTÃO DO CONHECIMENTO	47
5.4	SISTEMA DE SAÚDE DA MARINHA	49
5.5	INSTITUIÇÕES DE PESQUISA	53
5.6	LABORATÓRIOS PRIVADOS	55
5.7	LABORATÓRIOS PÚBLICOS	57
5.8	INSTITUIÇÕES DE PESQUISA DAS FORÇAS ARMADAS.....	59
5.8.1	<i>Instituto de Biologia do Exército</i>	59
5.8.2	<i>Divisão de Pesquisa do HFA</i>	60
5.8.3	<i>Instituto de Pesquisas Biomédicas</i>	61
6	SEQUENCIAMENTO GENÉTICO	63
7	BIOTERRORISMO E ARMAS BIOLÓGICAS	66
8	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

1 INTRODUÇÃO

As pandemias causadas por doenças infecciosas emergentes têm sido, historicamente, um flagelo para a humanidade, resultando em milhares de mortes e até mesmo na extinção de nações inteiras. A recente pandemia da doença do coronavírus-2019¹ (COVID-19) demonstrou a vulnerabilidade da nossa sociedade, pois, apesar de todos os avanços da ciência obtidos nos últimos séculos, um único microrganismo trouxe consequências profundas e multifacetadas para todo o planeta.

O diagnóstico confirmatório da COVID-19 foi um desafio em todo o mundo durante a pandemia, principalmente pela falta de informação técnica e, posteriormente, pela escassez de insumos. Nesse contexto, o Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD), por dispor de um instituto de pesquisas que já realizava ensaios utilizando a técnica de biologia molecular, iniciou precocemente a realização do diagnóstico molecular por meio da técnica da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa quantitativa em tempo real² (RT-qPCR), considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como “padrão ouro”. Dessa maneira, trouxe independência ao HNMD dos pouquíssimos laboratórios que realizavam o teste no início da pandemia, contribuindo para diagnósticos mais rápidos e precisos e, conseqüentemente, para a diminuição da morbidade e mortalidade da doença.

O objetivo principal deste trabalho é, a partir das experiências obtidas durante a pandemia da COVID-19, analisar a detecção molecular do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2³) realizada pelo Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) do HNMD, avaliar se o Sistema de Saúde da Marinha (SSM) pode aprimorar o diagnóstico laboratorial das viroses emergentes e se a experiência obtida no Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) com a detecção molecular do SARS-CoV-2 durante a pandemia da COVID-19 pode ser utilizada em outros setores da Marinha do Brasil (MB).

Foi utilizada a metodologia científica descritiva e qualitativa, utilizando as técnicas de observação participante, pesquisa bibliográfica e entrevistas estruturadas.

¹ Do inglês *coronavirus disease*.

² Do inglês *real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction*

³ Do inglês *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*

Realizou-se a observação participante, considerando que o autor participou de todo o processo de detecção molecular no IPB. As entrevistas foram enviadas por meio de questionários *online* por intermédio da plataforma Google Formulários a todas as Organizações Militares Hospitalares (OMH) da MB. A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida com base em material já elaborado, constituído por livros e artigos científicos encontrados em fontes abertas e na Biblioteca da Fundação Getúlio Vargas.

A relevância do estudo reside na demonstração da importância de uma resposta rápida e eficiente a emergências de saúde pública, podendo servir como modelo para outras instituições. O estudo destaca a necessidade de infraestrutura laboratorial adequada e capacitação técnica, sugerindo aprimoramentos no Sistema de Saúde da Marinha. A pesquisa também enfatiza a preparação para futuras pandemias, oferecendo insights valiosos para planejamento e resposta, além de explorar a interdisciplinaridade e a gestão do conhecimento como fatores cruciais. Finalmente, ao abordar a relação entre viroses emergentes e bioterrorismo, o estudo reforça a importância da vigilância e preparação contra ameaças biológicas, contribuindo para a segurança nacional.

Essa tese está desenvolvida em seis capítulos, além dessa Introdução e da Conclusão.

No capítulo 2, são conceituadas as viroses emergentes, evidenciando sua gravidade e papel nas pandemias. Foi utilizada, nesse capítulo, a pesquisa bibliográfica.

O capítulo 3 tem o objetivo de discorrer sobre a pandemia da COVID-19 no Brasil, onde são apresentados o histórico, a dinâmica da doença infecciosa, as características do agente etiológico e a epidemiologia. Esse capítulo também discorre sobre a pandemia no âmbito das Marinhas do Brasil e dos Estados Unidos da América, considerando as especificidades dessas Forças Navais. Foi utilizada, nesse capítulo, a pesquisa bibliográfica.

No capítulo 4, é descrito o diagnóstico laboratorial da COVID-19 utilizando técnicas de detecção indireta. estabelece um panorama abrangente dos métodos diagnósticos da COVID-19, suas vantagens, limitações e o papel fundamental que desempenharam na resposta global à pandemia, preparando o terreno para discussões mais aprofundadas sobre intervenções e inovações no diagnóstico de

viroses emergentes nos capítulos subsequentes. Foi utilizada, nesse capítulo, a pesquisa bibliográfica.

O objetivo do capítulo 5 é caracterizar o diagnóstico molecular do SARS-CoV-2 no Brasil e no HNMD. Esse capítulo aborda a complexa infraestrutura necessária para a realização dos testes. Também foram estudadas as capacidades necessárias para a realização de técnicas de biologia molecular e os conceitos de gestão do conhecimento. Foi realizada pesquisa por meio de entrevista estruturada em todas as OMH da MB para avaliar a infraestrutura para a detecção direta de material genético por meio de técnicas de biologia molecular no Sistema de Saúde da Marinha. Também foram pesquisadas por meio de pesquisa bibliográfica, à luz da utilização de técnicas de biologia molecular, as principais instituições de pesquisa civis, laboratórios de análises clínicas públicos e privados, e as Instituições de Pesquisa das Forças Armadas e Ministério da Defesa (MD). Ainda nesse capítulo, são apresentados o Instituto de Pesquisas Biomédicas do HNMD e a experiência obtida durante a pandemia com a utilização da técnica de observação participante e pesquisa bibliográfica.

O capítulo 6 discorre sobre o método de sequenciamento genético e a sua importância frente às viroses emergentes. Foi utilizada, nesse capítulo, a pesquisa bibliográfica.

Por fim, o capítulo 7 aborda o conceito de bioterrorismo e armas químicas, e a relação com as viroses emergentes.

2 VIROSES EMERGENTES

Existem diversas definições e conceitos na literatura médica acerca do conceito de doenças infecciosas emergentes e, dentro deste conjunto de patologias, serão destacadas, nesse capítulo, as viroses emergentes, considerando a grande importância desses microrganismos para o desenvolvimento de epidemias e até mesmo pandemias.

O aparecimento e a propagação de doenças infecciosas emergentes ou reemergentes sempre suscitaram preocupação. Por mais de cem anos, a modelagem tem sido empregada para entender a evolução dessas doenças, avaliar o impacto das intervenções em saúde pública e recomendar o melhor curso de ação para controlá-las. (MORENO, GORGOJO, *et al.*, 2022)

Ainda que as doenças infecciosas emergentes possam ser determinadas por qualquer tipo de microrganismo, as viroses merecem uma atenção diferenciada, não só pelo seu maior número e diversidade, mas também pela propriedade de muitos vírus sofrerem mutações e, portanto, gerarem mudanças de comportamento numa intensidade e velocidade maiores do que bactérias, protozoários ou fungos. (SILVA e ANGERAMI, 2008, p. 17)

Nesse contexto, pode-se conceituar viroses emergentes como o surgimento de uma nova doença causada por um tipo recente de vírus, por viroses que ocorriam em animais e passaram a infectar humanos, havendo a transposição da barreira da espécie e alteração do comportamento epidemiológico de viroses já conhecidas, desta forma trazendo grande repercussão para a saúde pública. Um exemplo de transposição da barreira da espécie foi o primeiro surto de influenza aviária, que é uma patologia epizootica de aves causada pelo vírus influenza A (H5N1) e seus diferentes subtipos em humanos, ocorrido na cidade de Hong Kong no ano de 1997, tendo levado ao óbito seis pacientes infectados. (VRANJAC, 2006).

Sem dúvida, a história da humanidade foi moldada pelos impiedosos surtos de pandemias de doenças infecciosas. Nações e civilizações inteiras foram varridas do mapa ao longo dos séculos. A lista é longa: pragas faraônicas bíblicas que atingiram o Antigo Egito no meio da Idade do Bronze, por volta de 1715 a.C., a "peste" em Atenas de 430 a 425 a.C. marcou o fim da era dourada de Péricles, as epidemias de "cocoliztli" que ocorreram durante o século XVI resultaram em cerca de 13 milhões de mortes, dizimando a população nativa mesoamericana. A Peste Negra irrompeu na Europa em 1348 e estima-se que tenha matado mais de 25 milhões de pessoas em apenas cinco anos. O vírus da gripe pandêmica de 1918–1919 varreu a

América, Europa, Ásia e África, devastando o globo: o número de mortos foi de cerca de 40 milhões de pessoas. Duas pandemias de gripe menos graves ocorreram nas décadas seguintes: as pandemias de gripe de 1957 e 1963 resultaram em dois e um milhão de mortes, respectivamente (SIETTOS e RUSSO, 2013)

Podem ser identificados múltiplos fatores implicados no aparecimento das viroses emergentes. O crescimento demográfico mundial está em curso, e as projeções realizadas pela ONU são de 8,5 bilhões de habitantes em 2030 e 9,7 bilhões em 2050. A maior parte desse crescimento ocorre nos países subdesenvolvidos, onde há uma crescente urbanização. Estima-se que 50% da população mundial viva em áreas urbanas, trazendo consigo aglomeração, saneamento inadequado, habitação precária e falta de infraestrutura urbana, criando condições favoráveis para a proliferação de agentes patogênicos e seus vetores. As viagens internacionais desempenham um papel importante na emergência de doenças, estimando-se cerca de 500 milhões de pessoas viajando anualmente e cerca de 70 milhões de imigrantes nos países desenvolvidos, oriundos dos países subdesenvolvidos. (LUNA, 2002).

Outro importante fator para o surgimento das viroses emergentes é a habilidade que esses microrganismos possuem de se adaptar por meio das mutações. Cada espécie viral possui sua própria taxa de mutação, que está relacionada principalmente ao tipo de genoma, que pode ser composto por ácido ribonucleico (RNA) ou ácido desoxirribonucleico (DNA), pela quantidade de pares de bases em seu genoma e pela sua velocidade de reprodução. (LUNA, 2002).

A pandemia de influenza de 1918 é o evento mais diretamente comparável à pandemia de COVID-19. Esse surto mortal resultou em mais de 40 milhões de mortes, um número ligeiramente superior ao total de vítimas da Primeira Guerra Mundial. Estima-se que a pandemia de 1918 tenha adoecido de 20 a 40 por cento do pessoal do Exército e da Marinha dos EUA. O exército perdeu milhões de dias de trabalho e dezenas de milhares de soldados devido ao surto. Muitos soldados e marinheiros adoeceram em campos de recrutas e em navios a caminho da frente de batalha. Os campos de treinamento eram pontos críticos, e uma média de 25 por cento dos recrutas nos campos foram infectados, com o número chegando a 50 por cento em alguns campos. Navios retornaram aos portos e marinheiros foram hospitalizados. A pandemia prejudicou muito o esforço de guerra. Quase todas as forças armadas, incluindo as do Reino Unido, Alemanha e França, sofreram de maneira semelhante (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021, p. 4).

A manipulação de microrganismos com vistas ao desenvolvimento de armas biológicas também é um fator a ser citado, considerando que a ideia já foi aventada no passado e ganhou força com os avanços da ciência na área de microbiologia no

século XX, sendo possível o desenvolvimento de programas de armas biológicas principalmente pelos Estados Unidos da América e pela antiga União Soviética. Este tema será aprofundado mais à frente no capítulo sobre bioterrorismo e armas biológicas. (LUNA, 2002).

Os fatores ambientais também podem contribuir para a emergência das viroses, podendo ser decorrentes da ação direta do próprio ser humano, como nos grandes empreendimentos imobiliários e de infraestrutura, como a construção de usinas hidrelétricas e rodovias, expansão da fronteira agrícola, ou pelas indiretas relacionadas, como as mudanças climáticas, como o aquecimento global, que trazem desequilíbrio na fauna e flora. LUNA (2002) afirma que “A proximidade entre seres humanos e animais, principalmente aves e suínos na China, tem sido atribuída à emergência de novos vírus da gripe. A importação clandestina de fauna exótica foi provavelmente responsável pela introdução do vírus do Nilo Ocidental em Nova Iorque”. Outro exemplo foi a moradia próxima a áreas reflorestadas nos Estados Unidos da América, que é atribuída como a causa da emergência da doença de Lyme, infecção provocada por uma bactéria transmitida por carrapatos, nesse país.

O mais alto nível de alerta da OMS, conforme previsto no Regulamento Sanitário Internacional, que constitui uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), foi declarado cinco vezes anteriormente à pandemia da COVID-19, sendo em abril de 2009 com a pandemia do vírus da gripe influenza A (H1N1), maio de 2014 com a disseminação internacional de poliovírus, agosto de 2014 com o surto de Ebola na África Ocidental, fevereiro de 2016 com o vírus zika e aumento de casos de microcefalia e outras malformações congênitas, e maio de 2018 com o surto de ebola na República Democrática do Congo. Neste contexto, constata-se que em todos os casos da ESPII o agente etiológico foi um vírus. (OPAS, 2024).

3 PANDEMIA DA COVID-19

Há aproximadamente doze anos antes da pandemia da COVID-19, os autores SILVA e ANGERAMI (2008) já descreviam que o surto de uma doença respiratória ocorrido na província chinesa de Guangdong em 2002 seria um “ensaio geral” para uma pandemia causada por vírus.

Síndrome Respiratória Aguda Grave: o “ensaio geral” de uma virose pandêmica. A pandemia, ainda que de proporções reduzidas, da síndrome respiratória aguda grave (SRAG ou, como é mais conhecida, SARS, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome*) foi a transformação em dura realidade do muito que se tem falado, escrito e discutido sobre doenças infecciosas emergentes. Em novembro de 2002, um surto de doença respiratória irrompeu em Guangdong, província chinesa situada no Sudoeste do país. A princípio interpretada como um surto de pneumonia atípica foi isolada a *Chlamydia pneumoniae* em quatro pacientes, as autoridades chinesas não parecem ter atribuído maior importância ao surto até três meses depois, em fevereiro de 2003, quando casos foram identificados em Hong Kong, região vizinha, e em Hanoi, no Vietnã, não muito distante de Guangdong. Nesses dois locais, e logo depois em Cingapura e em Toronto, Canadá, ficou evidente a elevada transmissibilidade da síndrome no ambiente hospitalar, onde houve a ocorrência de casos secundários e óbitos entre pessoal hospitalar, o que levou à interdição de hospitais em Cingapura, Toronto e Hong Kong. (SILVA e ANGERAMI, 2008, p. 24)

Naquele momento, o mundo logo percebeu a presença de uma enfermidade respiratória cuja causa ainda não estava esclarecida. O receio gerado por essa síndrome foi tão significativo que a OMS emitiu um alerta de escala global e, pela primeira vez em sua história, recomendou evitar viagens para as regiões afetadas nas cidades de Guangdong e Hong Kong. Assim que a enfermidade se espalhou por diferentes partes do globo, sua causa foi identificada em um tempo excepcionalmente curto de aproximadamente um mês. Tratava-se de um tipo de coronavírus (CoV) até então desconhecido, tanto em pessoas quanto em animais. Os coronavírus pertencem à família de vírus RNA de filamento único e geralmente não causam doenças graves em humanos. Até então, poucos tipos de coronavírus humanos eram conhecidos e geralmente associados a resfriados comuns, com possibilidade de causar problemas respiratórios leves em algumas ocasiões. Alguns coronavírus são responsáveis por diversas enfermidades em animais, como a peritonite infecciosa felina, a primeira dessas doenças associadas a coronavírus a ser identificada, já em 1912. O primeiro coronavírus foi isolado em 1937, em galinhas, e apenas na década de 1960 seu papel em doenças humanas foi reconhecido (SILVA e ANGERAMI, 2008).

Dez anos depois, em junho de 2012, uma nova cepa de coronavírus, anteriormente desconhecida, foi identificada na secreção da nasofaringe de um paciente de 64 anos que estava internado em um hospital em Jeddah, na Arábia Saudita. O paciente apresentava uma pneumonia grave, notavelmente semelhante à SARS de 2003, e acabou falecendo devido a complicações respiratórias e renais. Esse caso foi seguido por vários outros, principalmente em pacientes graves, dando origem à Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS). (SILVA, ANDRADE, *et al.*, 2020).

Pesquisadores da área de matemática aplicada já alertavam, em 2013, sobre a certeza do início de uma nova pandemia causada por vírus do tipo influenza.

Uma grande e intensiva pesquisa está em andamento para o desenvolvimento de melhores medicamentos e vacinas. No entanto, estudos nos alertam que uma nova pandemia do tipo influenza é a mais preocupante e é uma questão de tempo. A questão crítica não é se ela surgirá, mas quando, como vai se espalhar, quão mortal será, quem deve receber a vacina quando nem todos podem, qual a probabilidade de múltiplas ondas de reemergência e que tipo de intervenção pode ser aplicada para parar a disseminação. Infelizmente, mesmo com todos os avanços, ainda não temos respostas robustas (SIETTOS e RUSSO, 2013)

A previsão dos pesquisadores se concretizou e, em 31 de dezembro de 2019, a OMS foi informada que, na cidade de Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China, começaram a aparecer os primeiros casos de pneumonia grave com etiologia desconhecida, apresentando uma correlação com a exposição dos infectados ao mercado atacadista de frutos do mar de Huanan, que vendia animais vivos.

Inicialmente, especulou-se que o novo CoV se originou desse mercado e que se disseminou rapidamente a partir deste local, tornando-o epicentro da epidemia. É sabido que os morcegos são o principal reservatório natural para uma ampla variedade de coronavírus, incluindo o da síndrome respiratória aguda grave⁴ (SARS-CoV), SARS-CoV-2 e o MERS-CoV. Um estudo conduzido por PARASKEVIS, KOSTAKI, *et al.* (2020) sugeriu que o SARS-CoV-2 está filogeneticamente relacionado ao vírus BatCoV RaTG13, detectado em morcegos na província de Yunnan, na China. O sequenciamento genômico revelou uma semelhança de aproximadamente 96,0%. No entanto, o BatCoV RaTG13 não possui a variante exata responsável pelo atual

⁴ Do inglês: *severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV)*

surto em humanos, mas reforça a hipótese de que o SARS-CoV-2 tenha tido origem nestes mamíferos. Como os morcegos não são comercializados no mercado de Wuhan, a possibilidade de o vírus ter surgido neste local foi descartada. (BRITO, BRAGA, *et al.*, 2020).

Outros estudos pressupõem que o SARS-CoV-2 foi transmitido de morcegos para pangolins e, a partir desses hospedeiros intermediários, para os seres humanos. Embora não existam dados que comprovem essa hipótese, os resultados baseiam-se em análises filogenéticas e no sequenciamento de proteínas virais, que mostram semelhanças entre o SARS-CoV-2 e outros coronavírus, capazes de infectar células de outras espécies, como pangolins e tartarugas. De acordo com LIU, XIAO, *et al.* (2020), a proteína S do SARS-CoV-2 e a do CoV do pangolim SRR10168377 possuem uma homologia de 88,0%, o que aumenta a possibilidade de o pangolim ser um possível hospedeiro intermediário, sugerindo a transmissão interespecies até chegar aos seres humanos. Embora muitos estudos tentem identificar o local e o momento exato do surgimento do vírus, ainda não se sabe quando o coronavírus adquiriu a capacidade de transpor a barreira das espécies, infectando os seres humanos e se tornando o SARS-CoV-2 (BRITO, BRAGA, *et al.*, 2020).

Em um curto espaço de tempo, mais precisamente em 12 de janeiro de 2020, autoridades de saúde na China divulgaram o sequenciamento do genoma viral e a identificação de uma nova cepa de coronavírus que afetava os seres humanos, caracterizada por uma alta taxa de transmissibilidade e infectividade. O sequenciamento genético foi compartilhado com a OMS por meio do banco de dados *Internacional Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), tendo o seu genoma completo depositado no *GenBank* sob o número MN908947. Esta sequência foi usada para desenhar primers e sondas específicas, fazendo da transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) um método sensível e específico para SARS-CoV-2 (SILVA, ANDRADE, *et al.*, 2020).

Os coronavírus fazem parte da família *Coronaviridae* e recebem esse nome devido à sua estrutura externa, que se assemelha a uma coroa quando observada ao microscópio eletrônico. São microrganismos cujo genoma é composto por uma única fita de ácido ribonucleico (RNA), sendo classificados como RNA-vírus. Os coronavírus foram identificados pela primeira vez em 1937 e descritos em 1965. Embora esses vírus infectem frequentemente animais, algumas cepas causam infecções leves em humanos, como resfriados comuns, enquanto outras, como os SARS-CoV e MERS-

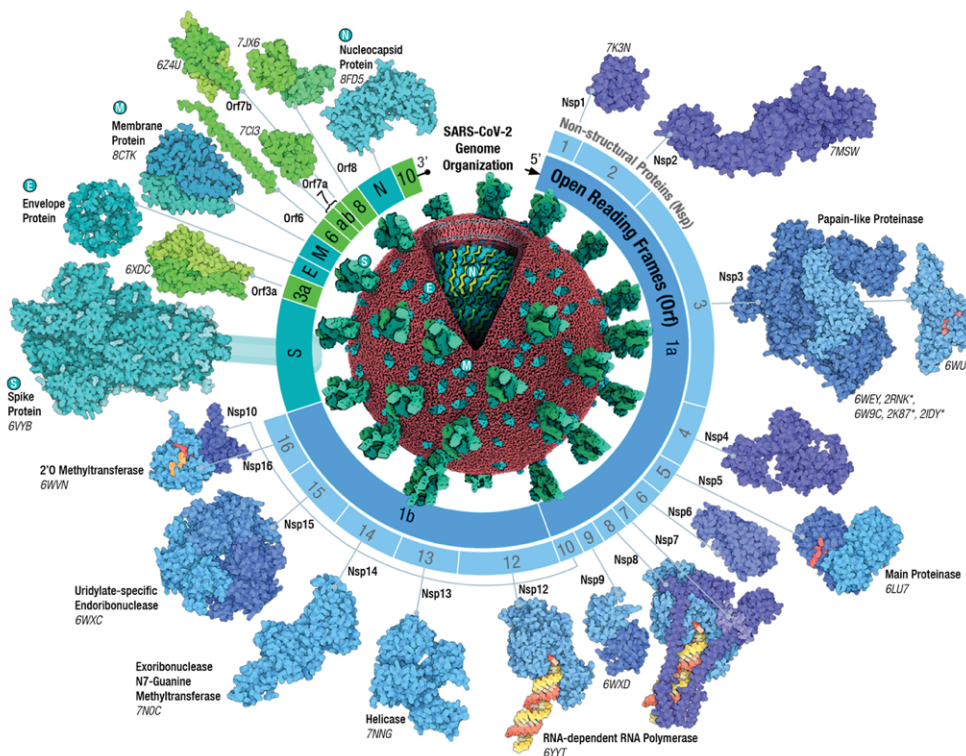
CoV, são responsáveis pelas síndromes respiratórias agudas severas (SARS) e do MERS, respectivamente. (NOGUEIRA, 2020).

O novo coronavírus foi inicialmente denominado novo coronavírus 2019 (2019-nCoV) e posteriormente nomeado pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) como SARS-CoV-2. Ele é classificado como um β CoV, com capacidade de infectar mamíferos, incluindo pessoas. Seu genoma é conhecido por sua alta taxa de mutações e recombinações, o que lhe confere um grande potencial para alternar entre diferentes hospedeiros e aumentar sua patogenicidade. Ele pertence à subfamília Orthocoronaviridae e é um vírus envelopado com uma fita simples de RNA positivo (RNA+) de aproximadamente 30 kilobytes, sendo o maior genoma viral conhecido até o momento, contendo cerca de 30.000 nucleotídeos (MENEZES, LIMA e MARTINELLO, 2020).

Foram identificadas aproximadamente vinte e nove proteínas virais no SARS-CoV-2, destacando-se as quatro estruturais: S (spike), E (envelope), M (membrana) e N (nucleocapsídeo). A proteína S permite a entrada do vírus na célula hospedeira pela ligação ao receptor celular da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), presente principalmente nas células pulmonares, enquanto a proteína N regula o processo de replicação viral (UZUNIAN, 2020).

O vírus rapidamente se espalhou pelo mundo e, já em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou que o surto do novo coronavírus constitui uma ESPII, o mais alto nível de alerta da organização.

Desde o relato dos primeiros casos no final de dezembro de 2019, a infecção se propagou rápida e globalmente para todos os continentes, exceto Groelândia, causando enorme sofrimento e perda de vidas em curto espaço de tempo. Evidências recentes sugerem que o vírus poderia já estar em circulação alguns meses antes do relato de seu primeiro caso. O encontro de material genético viral em água de esgoto coletada em Santa Catarina no final de novembro de 2019 demonstra indícios de que o SARS-CoV-2 também já circulava no Brasil antes do primeiro caso reportado nas Américas em 27 de janeiro de 2020. (SILVA, ANDRADE, *et al.*, 2020, p. 3)

Figura 1- Representação esquemática do SARS-CoV-2⁵

Fonte: pdb101.rcsb.org

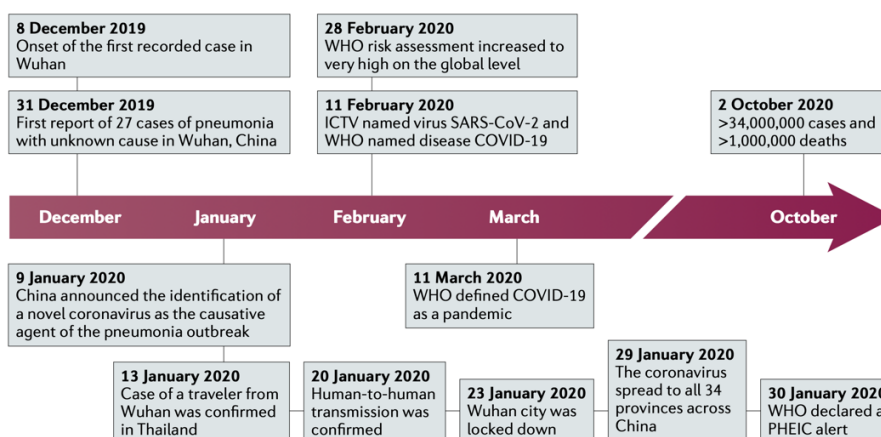
O primeiro caso foi registrado no Brasil em 26 de fevereiro de 2020, na cidade de São Paulo, em um cidadão idoso que havia viajado para a Itália. Entretanto, existem evidências de que o vírus já estava em circulação na cidade brasileira de Santa Catarina, onde foi encontrado material genético viral na água de esgoto coletada no final de novembro de 2019 (FONGARO, 2021).

Confirmamos a presença de RNA do SARS-CoV-2, o que fortemente indica a circulação do SARS-CoV-2 nas Américas já em 27 de novembro, 56 dias antes dos relatos de casos de COVID-19 no continente e mais de 90 dias no caso do Brasil. Portanto, nossos resultados indicam que o SARS-CoV-2 estava circulando despercebido na comunidade por alguns meses antes que o status de pandemia fosse declarado. Nossos resultados também mostram que a carga viral do SARS-CoV-2 permaneceu constante até o início de março, e então aumentou coincidindo com o surgimento de casos de COVID-19 na região de Santa Catarina (FONGARO, 2021, p. 4).

⁵ O genoma do SARS-CoV-2 é uma única cadeia de RNA que codifica uma grande coleção de proteínas que são sintetizadas pelos ribossomos depois que o vírus infecta uma célula hospedeira. Quatro proteínas estruturais (S, E, M, N) embalam o genoma de RNA dentro de uma membrana bilateral de lipídios para formar partículas virais infecciosas. Dezesesseis proteínas não estruturais (Nsp 1-16) e seis proteínas acessórias facilitam a construção e liberação de novas partículas virais.

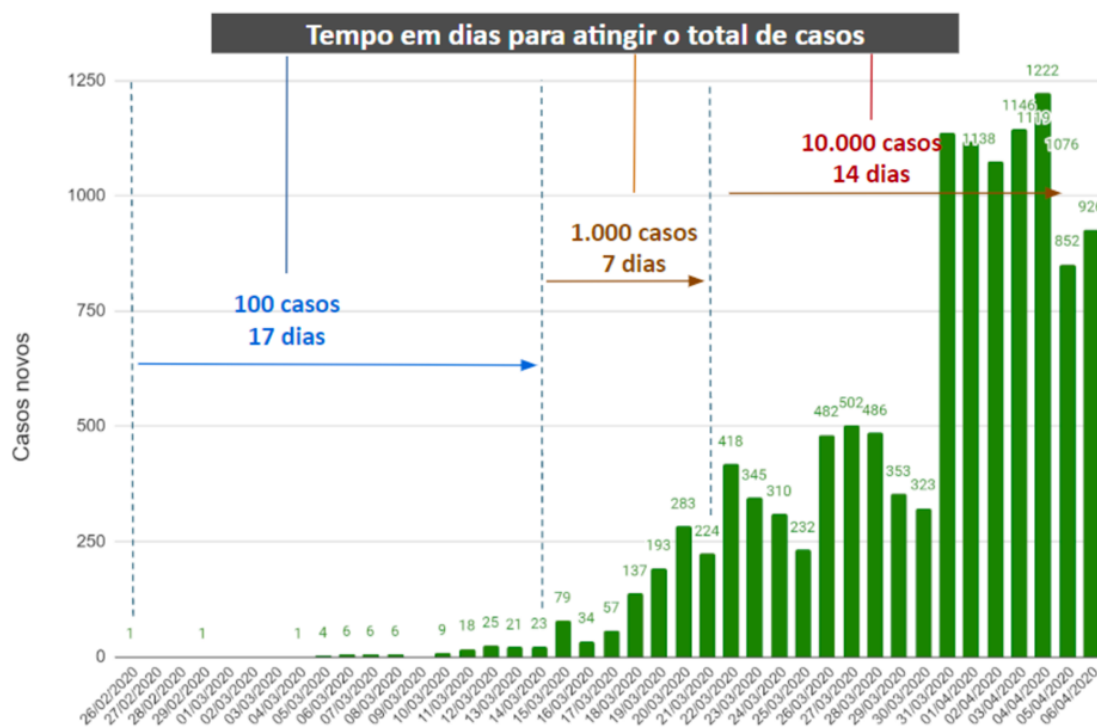
Após aproximadamente dois meses, em onze de março de 2020, Tedros Adhanom Ghebreyesus, Diretor-Geral da OMS, declarou que a organização elevou o estado da contaminação à pandemia de COVID-19. No Brasil, a infecção se espalhou muito rapidamente, e, no mês de abril de 2020, eram necessários apenas quatorze dias para atingir a marca de 10.000 novos casos. Em dezessete de março de 2020, ocorreu o primeiro óbito na cidade de São Paulo, e três dias após foi reconhecida a transmissão comunitária da doença em todo o país. Em seis de abril de 2020, já haviam ocorrido 553 óbitos no território brasileiro. (OLIVEIRA, DUARTE, *et al.*, 2020).

Figura 2 - Linha do tempo dos principais eventos da pandemia da COVID-19



Fonte: (SHI, HU, *et al.*, 2021)

Finalmente, em cinco de maio de 2023, o Diretor-Geral da OMS declarou o fim da ESPII referente à COVID-19. Entretanto, o término da declaração de emergência não indica que a COVID-19 tenha perdido sua condição como uma ameaça à saúde. A disseminação global da doença ainda é considerada uma pandemia (OPAS, 2023). Em vinte e oito de março de 2023, após três anos desde o primeiro caso de COVID-19 registrado no país, o Brasil atingiu a lastimosa marca de 700 mil mortes causadas pela doença. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Figura 3 - Distribuição dos casos de COVID-19 no Brasil⁶

Fonte: Ministério da Saúde

Em 23 de maio de 2024, a autoridade de saúde do México comunicou à OPAS/OMS um caso fatal de infecção humana pelo vírus da influenza aviária A (H5N2). Esse caso ocorreu com um cidadão mexicano de 59 anos de idade, que foi hospitalizado na Cidade do México e não tinha histórico de contato com aves ou outros animais. Foi o primeiro relato de infecção humana causada pelo vírus influenza A (H5N2) confirmado em laboratório por sequenciamento genético e RT-PCR e divulgado mundialmente, sendo o primeiro caso de infecção por vírus aviário H5 em humanos no México. A origem da exposição ao vírus ainda era desconhecida, mas vírus A (H5N2) haviam sido identificados em aves no México. Naquele momento, a OMS avaliava o risco para a população geral como baixo (WHO, 2024).

⁶ Distribuição dos casos de COVID-19 no Brasil por data de notificação, 2020

3.1 MARINHA DO BRASIL

Durante a pandemia de influenza de 1918, a Divisão Naval em Operações de Guerra (DNOG) do Brasil registrou uma das taxas de mortalidade mais altas entre as marinhas de guerra do período. Esse evento marcou o primeiro encontro significativo de uma população brasileira com o vírus da influenza. A maioria das mortes ocorreu em setembro de 1918, durante a segunda onda da pandemia, especialmente na região da África Ocidental. A infecção foi provavelmente contraída após o contato com navios britânicos infectados em portos como Freetown e Dacar. Mais de 10% da tripulação da DNOG faleceu antes de retornar ao Brasil, sendo 8,3% dessas mortes oficialmente atribuídas à influenza. O número de óbitos aumentou rapidamente poucos dias após o primeiro falecimento, atingindo um pico e, em seguida, diminuindo de forma igualmente rápida. Esse padrão é típico da rápida disseminação de doenças infecciosas graves em comunidades confinadas. (ALONSO, SCHUCK-PAIM, *et al.*, 2013).

A experiência da DNOG durante a pandemia de influenza de 1918 ressalta a importância das condições de trabalho e de vida em ambientes confinados na propagação e gravidade de doenças infecciosas. Esse episódio forneceu insights cruciais para a preparação e resposta a futuras pandemias, tanto em contextos militares quanto civis, destacando a vulnerabilidade das forças armadas brasileiras a doenças infecciosas e a necessidade de medidas de saúde pública eficazes em ambientes militares. A análise desse caso ofereceu uma compreensão valiosa sobre as dinâmicas de transmissão de doenças em contextos navais, orientando estratégias futuras para prevenir surtos semelhantes. (ALONSO, SCHUCK-PAIM, *et al.*, 2013)

A última vez que a MB se deparou com uma crise sanitária com potencial de mantê-la imobilizada em virtude da elevada letalidade foi há 102 anos, no final da Grande Guerra. Apesar de toda a tecnologia que a MB dispõe desde o final do século passado, a possibilidade de infecção proposital ou não, e a proliferação de um vírus em um navio de guerra pode comprometer a sua disponibilidade (CAAML, 2020, p. 21)

Em fevereiro de 2020, na MB, em consonância com a Estratégia Nacional de Defesa (END), o Livro Branco de Defesa Nacional, os Fundamentos Doutrinários da Marinha (FDM) e a Estratégia de Defesa Marítima (EDM), quanto à participação das

Forças Armadas em ações humanitárias, foi elaborado um Plano de Atividades que serviu como guia para a manutenção das operações e a proteção da tripulação e da Família Naval. Também nesse mesmo mês, precisamente no dia 20, foi estabelecida uma extensa Força-Tarefa liderada pelo Diretor-Geral do Pessoal da Marinha, denominada Operação “Grande Muralha”, visando otimizar os recursos para lidar com a pandemia. No mês seguinte, em março, a Diretoria de Saúde da Marinha (DSM) começou a divulgar Protocolos Clínicos e Terapêuticos para orientar os tratamentos da COVID-19, os quais eram constantemente atualizados conforme novas informações sobre a doença surgiam.

Em resposta à ameaça promovida pela COVID-19, a MB iniciou a Operação “Grande Muralha”. Esta operação foi concebida para realizar ações de enfrentamento à COVID-19 nos campos Médico e de Defesa Biológica, atendendo à Família Naval e às populações locais em todos os Distritos Navais. Para a tal, o Comandante da Marinha incorporou todos os recursos disponíveis da MB para o enfrentamento, mobilizando todos os componentes do Sistema de Saúde da Marinha (SSM) e das Organizações militares (OM) de atribuições operativas. A Operação “COVID-19” foi iniciativa do Ministério da Defesa (MD), e por meio do Estado Maior Conjunto das Forças Armadas (EMCFA), operacionalizou a mitigação da disseminação da COVID-19, utilizando-se de informações, protocolos e acompanhamentos estatísticos (CAAML, 2020, p. 43).

A MB implementou rigorosos procedimentos para manter a força de trabalho durante a pandemia. Isso incluiu a redução da circulação do pessoal nos navios para entre 30% e 50% por meio de um sistema de rodízio, o isolamento domiciliar de militares suspeitos de contaminação e daqueles pertencentes ao grupo de risco, e a realização de desinfecções a bordo das embarcações. A figura 3 mostra um alojamento do Navio de Patrulha Oceânico (NaPaOc) Amazonas da MB, demonstrando o ambiente confinado de um navio de guerra e os desafios de controlar uma infecção como a da COVID-19, cujo mecanismo ocorre principalmente por meio de gotículas respiratórias e aerossóis expelidos quando uma pessoa infectada tosse, espirra, fala ou respira. Essas partículas podem ser inaladas por pessoas próximas, geralmente a uma distância de até dois metros. Além disso, o vírus pode se depositar em superfícies, e uma pessoa pode se contaminar ao tocar essas superfícies e, em seguida, levar a mão ao rosto, especialmente olhos, nariz ou boca. Além disso, os exercícios no mar, quando necessários, foram conduzidos sem visitas a portos fora das sedes dos navios. Dessa forma, a MB conseguiu preservar sua capacidade

operativa e manter o preparo de seus meios para cumprir sua missão constitucional. (CAAML, 2020).

Figura 4 – Exemplo de alojamento de um Navio da MB (NaPaOc Amazonas).



Fonte: Sítio eletrônico Poder Naval (<https://www.naval.com.br/blog/2012/09/29/por-dentro-do-amazonas>).

3.2 MARINHA DOS ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA

A pandemia de COVID-19 revelou várias vulnerabilidades na prontidão da Marinha dos EUA para responder a eventos médicos em larga escala. Embora a Marinha tenha conseguido evitar hospitalizações e mortes em grande escala, isso foi alcançado às custas da moral das tripulações e da prontidão geral das operações. As medidas de mitigação, essenciais para conter a disseminação do vírus, impuseram estressores adicionais às tripulações. Isso resultou em atrasos nos cronogramas de manutenção críticos, comprometendo a eficiência operacional dos navios (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021).

Essas dificuldades expuseram a necessidade urgente de melhorias significativas na coordenação entre os comandos médicos e operacionais. A pandemia destacou a importância de uma resposta integrada e coordenada, onde as decisões médicas e operacionais sejam alinhadas para garantir a saúde da tripulação sem

comprometer as missões. Além disso, tornou-se evidente que a preparação para futuras emergências de saúde pública precisa ser aprimorada, incluindo o desenvolvimento de protocolos mais robustos e a capacidade de aumentar rapidamente os recursos médicos a bordo dos navios. (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021).

É importante reconhecer a magnitude do desafio que este vírus apresentou. Seu início foi repentino e ele se espalhou rapidamente, às vezes sobrecarregando as instalações de cuidados intensivos dos sistemas de saúde pública. Embora a estrutura genética do vírus tenha sido rapidamente isolada, inicialmente não havia medicamentos conhecidos que combatessem os efeitos da doença, tornando o isolamento, barreiras físicas e a limpeza frequente para remover o vírus os únicos mecanismos para combatê-la. Na ausência de uma vacina ou tratamento, o principal meio de superar a doença foi impedir sua propagação. Isso foi desafiador para a Marinha, com seus espaços confinados e áreas de convivência próximas. Isolar completamente a tripulação tornou-se a única opção disponível (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021).

A experiência com a COVID-19 sublinhou a importância de um planejamento proativo e de exercícios regulares que simulem cenários de pandemias. Isso ajudaria a Marinha a identificar lacunas em sua resposta e a desenvolver estratégias mais eficazes para lidar com surtos de doenças infecciosas no futuro. A integração de tecnologia avançada, como sistemas de vigilância de saúde em tempo real e capacidades de telemedicina, também pode fortalecer a capacidade da Marinha de monitorar e responder rapidamente a emergências de saúde pública. Desde o início da pandemia, a Marinha estadunidense continuou a preparar seus navios para realizar operações de presença sem interrupções, fazendo ajustes de cronograma para atender aos requisitos de missões conforme a autoridade de comando nacional (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021).

[...] O SARS-CoV-2 é altamente contagioso e se espalha muito rapidamente pelo ambiente lotado e, apesar dos melhores esforços [...] uma pessoa infectada com sintomas leves ou até mesmo sem sintomas passaria infecções por esse compartimento de alojamento muito rapidamente. Os sistemas de ventilação nos navios não possuem filtragem especial, então não é surpreendente que, quando uma infecção atinge, ela atinge grandes porções da tripulação. Os locais de trabalho são igualmente lotados e propensos a espalhar infecções também. (MARTIN e BRAHMBHATT, 2021, p. 6)

4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19

Durante a pandemia, o diagnóstico confirmatório da COVID-19 representou um desafio global, especialmente devido à escassez inicial de informações técnicas e, posteriormente, à falta de insumos e de mão de obra qualificada. Didaticamente, os métodos mais utilizados durante a pandemia podem ser divididos em dois grupos: os ensaios diagnósticos diretos, que identificam a infecção diretamente ao detectar o RNA ou antígeno do SARS-CoV-2, e os indiretos, que realizam a detecção dos anticorpos formados pelo ser humano contra o vírus, também conhecidos como exames sorológicos (MARTINELLO, 2021).

Segundo MA, HUIYANG, et al. (2021), “O diagnóstico por sequenciamento ainda é o principal método na identificação do novo coronavírus e desempenha um papel importante na pesquisa funcional do vírus. Nesta batalha científica e tecnológica, a análise dos dados de sequenciamento do vírus por ferramentas de bioinformática fornece uma base importante para a descoberta do SARS-CoV-2”.

Existem outras abordagens para o diagnóstico, como o isolamento do vírus através da cultura de tecidos. Porém, este método é demorado e requer instalações de laboratório com nível de biossegurança 3 (NB3), as quais são raras no Brasil. (MENEZES, LIMA e MARTINELLO, 2020).

Em 2021, o Ministério da Saúde dispunha de apenas doze laboratórios NB3 em todo o país. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Neste capítulo, não será abordado o método direto por detecção molecular do SARS-CoV-2, que será descrito no capítulo 5.

4.1 TESTES RÁPIDOS (*LATERAL FLOW IMMUNOASSAY*)

Do inglês *Lateral Flow Immunoassay* (LFIA), os testes rápidos utilizam esta metodologia que consiste na técnica de imunocromatografia. Também são conhecidos como, do inglês, *Point of Care Testing* (POCT), que são testes que podem ser realizados no ponto de atendimento, como consultórios médicos, farmácias, postos de saúde, entre outros. Existem dois tipos de testes rápidos disponíveis: os que detectam proteínas virais durante a infecção, chamados de teste rápido qualitativo para detecção de antígenos do vírus SARS-CoV-2 (TR COVID-19 Ag), que são

normalmente realizados em amostras de secreção da nasofaringe, considerados também como métodos de detecção direta, e aqueles que identificam anticorpos produzidos pela resposta imunológica do organismo ao vírus, obtidos a partir de amostras de sangue periférico, considerados métodos indiretos de detecção. Embora amplamente utilizados, os testes rápidos podem apresentar sensibilidade e especificidade muito baixas quando realizados fora da janela correta, e, conseqüentemente, uma taxa de 75% de resultados falso-negativos, gerando dúvida no diagnóstico (OLIVEIRA, WATANABE, *et al.*, 2022).

Os anticorpos ou imunoglobulinas (Ig) são detectados em momentos diferentes no decorrer da infecção. Segundo OLIVEIRA, WATANABE, *et al.* (2022), “A IgM é identificada a partir do quinto dia de sintomatologia e, mais significativamente, a partir do oitavo dia, enquanto os valores de IgG específica começam a ser detectáveis a partir do décimo dia do início dos sintomas e, mais significativamente, a partir do décimo quarto dia”.

Os anticorpos começam a ser produzidos a partir do sétimo dia da doença. Portanto, um resultado negativo não exclui a possibilidade de doença devido à janela imunológica. Esse teste é realizado a partir de amostras de sangue, soro ou plasma, que deve ser obtida a partir do oitavo dia de sintomas, para que seja considerado o tempo de produção de anticorpos pelo sistema imunológico em quantidade suficiente para detecção (NOGUEIRA, 2020, p. 119).

Portanto, é importante interpretar com cautela um resultado negativo em um teste sorológico para COVID-19. Deve-se considerar cuidadosamente a duração da doença, o histórico clínico e outros exames do paciente antes de descartar a possibilidade de infecção por SARS-CoV-2 (BARRAL-NETTO, BARRETO, *et al.*, 2020).

Nos TR COVID-19 Ag, é realizada a detecção qualitativa de antígenos do SARS-CoV-2 em amostras de *swab* nasofaríngeo humano. Duas proteínas, a S e a N, destacam-se por serem mais propensas a desencadear uma resposta imunológica. Assim, a presença dessas proteínas pode resultar na produção de anticorpos específicos, anti-S e anti-N. Durante a resposta imunológica à infecção pelo novo coronavírus, a replicação viral precede o surgimento dos anticorpos, caracterizada por uma alta carga viral durante o período de viremia. Os antígenos associados ao vírus

podem ser identificados nos estágios iniciais após o início dos sintomas, indicando uma infecção ativa.

Os testes rápidos têm vantagens em termos de rapidez e facilidade de execução em comparação com outros métodos, por não precisarem de estrutura laboratorial complexa, por serem exames POCT. Outro benefício desta técnica é que tanto a sensibilidade quanto a especificidade são menos afetadas pelos fatores associados à fase pré-analítica, considerando que o material utilizado nos testes rápidos é mais estável do que o empregado nos testes moleculares. Ao contrário do material genético viral, os anticorpos são mais resistentes às variações no armazenamento das amostras. Os testes rápidos são projetados para funcionar com pequenas quantidades de sangue total ou de material biológico da nasofaringe, sendo necessária apenas a coleta por capilaridade a partir de uma pequena punção na ponta do dedo ou pela coleta de material biológico da nasofaringe com a utilização de *swab*. (BARRAL-NETTO, BARRETO, *et al.*, 2020).

4.2 IMNUOABSORÇÃO ENZIMÁTICA (ELISA) E QUIMIOLUMINESCÊNCIA (CLIA)

Além do teste LFI mencionado anteriormente, a quantificação de anticorpos IgG, IgM e IgA pode ser conduzida através do método de imunoabsorção enzimática, conhecido como *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Normalmente, os testes visam à detecção de anticorpos das classes IgM e IgG; entretanto, também existem testes para a detecção de IgA anti-SARS-CoV-2.

O método ELISA é muito importante para a realização de diagnósticos virais, pois fornece informações tanto qualitativas quanto quantitativas a partir de amostras de sangue, enquanto que os métodos utilizados como POCT são apenas qualitativos.

O teste ELISA é capaz de detectar a presença de anticorpos no paciente por meio do reconhecimento específico de um antígeno viral fixado em uma superfície sólida. Este antígeno é então complexado com um anticorpo ligado a uma enzima. Na presença do substrato, ocorre uma reação que gera uma solução colorida. Essa solução pode ser semiquantificada por meio de leitores de densidade óptica, utilizando uma curva ou um valor de referência. (BARRAL-NETTO, BARRETO, *et al.*, 2020).

Os testes de Quimioluminescência (CLIA) são similares ao ELISA e detectam a presença de anticorpos por uma reação enzimática quimioluminescente, que também

pode ser semiquantificada por meio de detectores de luminescência. A CLIA é conhecida como uma tecnologia de alto rendimento e baixa complexidade e pode ajudar na cinética de tempo de resposta humoral na COVID-19. A CLIA e ELISA são testes sorológicos realizados por técnicas de análise automatizadas e convencionais. Métodos mais recentes, como a Eletroquimioluminescência (ECLIA), também estão disponíveis para detectar anticorpos totais ou apenas IgG. Todos os métodos descritos anteriormente apresentam uma sensibilidade superior ao teste rápido na detecção de anticorpos. No entanto, assim como o teste rápido, a precisão desses ensaios depende do momento em que a coleta foi realizada, sendo recomendada a coleta a partir do décimo dia do início dos sintomas para IgM e IgA, e após o décimo quinto dia para IgG. (OLIVEIRA, WATANABE, *et al.*, 2022).

5 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DO SARS-CoV-2

Neste capítulo, será abordado o diagnóstico da COVID-19 utilizando a detecção direta do material genômico (RNA) do SARS-CoV-2, empregando a principal técnica de biologia molecular, a RT-qPCR, que é a mais utilizada no Brasil. A RT-qPCR pertence à categoria de testes de amplificação de ácido nucleico (NAAT), onde o material genético dos microrganismos é amplificado milhões de vezes. A reação em cadeia da polimerase (PCR), do inglês *polymerase chain reaction*, é o método mais sensível e específico para a detecção e amplificação do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e o mais utilizado mundialmente; em teoria, pode detectar um único fragmento de DNA, que pode ser de uma bactéria, vírus, fungos ou parasitas. (BUSTIN e NOLAN, 2020). Entretanto, por tratar-se de um RNA-vírus, é necessário realizar a transcrição reversa, que basicamente transforma o RNA em DNA e permite a realização da PCR. O exame passa a ser denominado transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Por fim, existe uma variação da técnica que permite que a amplificação e detecção ocorram simultaneamente, sendo o resultado visualizado em tempo real. A grande vantagem e diferencial do método é que possibilita resultados quantitativos com maior acurácia; dessa forma, o exame passa a ser denominado RT-qPCR.

Embora o SARS-CoV-2 tenha sido identificado pela primeira vez em pacientes por meio de sequenciamento metagenômico, essa abordagem é muito demorada e cara para ser usada rotineiramente para diagnosticar a infecção viral. O desenvolvimento de testes de amplificação de ácido nucleico (NAATs) rápidos, baratos e sensíveis para a detecção molecular de rotina do SARS-CoV-2 foi, portanto, priorizado no início do surto (OPAS, 2021, p. 20).

Vários estudos apontam este método como o melhor para a detecção do SARS-CoV-2. Segundo CASTEJON, YAMASHIRO, et al. (2021), entre os testes de ácido nucleico, a RT-PCR é considerada o “padrão-ouro” para a detecção da síndrome respiratória aguda grave do SARS-CoV-2, em razão de benefícios como especificidade e por representar um ensaio qualitativo simples. Em uma revisão sistemática recente, foi mostrada uma sensibilidade média de 95% e especificidade de 96% a 100%. (JÚNIOR, SOUZA, et al., 2023).

Por fim, após o levantamento de dados dos artigos, ficou evidente que em relação a detecção da infecção por SARS-CoV-2, o teste molecular, mostrou-se mais eficaz quando comparado ao teste sorológico. O principal parâmetro para esta afirmação está ligado a sensibilidade dos testes, visto, que os resultados de detecção dos testes sorológicos apresentaram alta variação, principalmente na detecção do IgM (devido ao seu curto prazo de resposta) (JÚNIOR, SOUZA, *et al.*, 2023, p. 7)

A OMS e o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) também indicaram como “padrão ouro” os testes de biologia molecular que identificam a presença do material genético (RNA) do vírus SARS-CoV-2 na secreção respiratória, sendo o teste com maior acurácia no diagnóstico. Além da inegável grande acurácia, é o método que consegue realizar mais precocemente o diagnóstico, apenas três dias após o aparecimento de sintomas da infecção. Outra grande vantagem da RT-qPCR é a capacidade de quantificar a carga viral e, desta forma, relatar não apenas uma resposta qualitativa de infectado/não infectado, mas também permitir a avaliação da carga viral e, assim, avaliar o prognóstico da doença (BUSTIN e NOLAN, 2020).

O teste de RT-qPCR permite uma avaliação estimada da carga viral baseada no número de ciclos necessários para o equipamento detectar o material genético viral amplificado. Por exemplo, a presença de pouco material viral – pequena carga viral ou pouca quantidade de material coletado, requer a realização de uma quantidade maior de ciclos de amplificação para que o material genético viral se torne detectável para o equipamento. Enquanto que uma alta carga viral é detectada pelo equipamento em poucos ciclos. Apesar da informação da quantidade viral ser importante para discussões sobre transmissibilidade e/ou evolução da doença, durante a rotina clínica/laboratorial, os laudos são expressos apenas como detectado (BARRAL-NETTO, BARRETO, *et al.*, 2020, p. 4).

Em que pese o método RT-qPCR ser considerado “padrão ouro”, ele apresenta algumas desvantagens. O método pode produzir resultados falso-negativos ou indeterminados, dependendo da carga viral do paciente no momento da coleta do material biológico ou da aplicação inadequada do *swab* da orofaringe. O transporte e conservação inadequados das amostras também contribuem para a inacurácia do teste, assim como a característica dos alvos genéticos utilizados no exame. (CASTEJON, YAMASHIRO, *et al.*, 2021). Vale citar também que o teste molecular precisa de várias horas ou até alguns dias para se obter os resultados e, por tratar-se de um teste de alta complexidade, necessita de um laboratório de biologia molecular sofisticado, com equipamentos caros, nível de biossegurança adequado e, principalmente, técnicos e cientistas treinados. (RAO, AGARWAL e BATURA, 2020).

O método de amplificação isotérmica mediada por alça com transcrição reversa (RT-LAMP), do inglês *reverse transcription loop-mediated isothermal amplification*, é outra técnica de biologia molecular de detecção direta, semelhante ao RT-qPCR. Trata-se de um NAAT que detecta o material genético do microrganismo. Essa abordagem foi amplamente empregada para diagnosticar doenças infecciosas como dengue, zika e chikungunya. A RT-LAMP utiliza amostras de secreção da nasofaringe ou de saliva. Tanto no RT-qPCR quanto no RT-LAMP, são desencadeadas reações que envolvem a transcrição reversa e uma fase de amplificação, na qual regiões específicas do SARS-CoV-2 são replicadas milhões de vezes. Consequentemente, esses testes identificam o material genético do vírus. No entanto, no RT-LAMP, o processo ocorre em um ambiente isotérmico, ou seja, sem as flutuações de temperatura normalmente necessárias para a PCR, o que torna a técnica consideravelmente mais rápida em comparação com a RT-PCR, com resultados disponíveis em até uma hora. O RT-LAMP realiza a amplificação do DNA em uma única temperatura, utilizando uma enzima DNA polimerase que possui atividade de deslocamento de fita e primers desenhados de modo a formar loops na fita de DNA. A vantagem dessa técnica está na criação de novos pontos de início para a amplificação dentro dos grampos, o que aumenta exponencialmente o número de sítios de ligação da polimerase e reduz o tempo de reação em relação à PCR.

O método de repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente espaçadas (CRISPR), do inglês *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, também pertence ao grupo de NAAT e foi descoberto na década de 1980. Posteriormente, foi transformado em uma ferramenta para edição de genomas. O sistema CRISPR é um mecanismo imunológico adaptativo em organismos procarióticos, como bactérias e arqueas (arqueobactérias), que protege contra elementos genéticos estranhos, como vírus e plasmídeos. Baseado na atividade orientada por RNA das proteínas Cas, que é uma endonuclease responsável por quebrar o local genômico do alvo, e de um RNA guia, que identifica e direciona a endonuclease Cas para o local desejado, esse sistema evoluiu para se tornar uma ferramenta poderosa de edição genômica e terapia genética. Além de sua aplicação na edição de genomas, o CRISPR-Cas despertou grande interesse na detecção de ácidos nucleicos, devido às suas características singulares. Durante a pandemia de COVID-19, foram apresentados alguns estudos sobre o CRISPR-Cas para detectar o SARS-CoV-2 (RAHIMI, SALEHIABAR, *et al.*, 2021).

Considerando a capacidade desses métodos de detecção em identificar o SARS-CoV-2 com alta precisão e rapidez, eles têm o potencial de contornar algumas limitações dos testes laboratoriais baseados em RT-qPCR e aumentar a quantidade total de testes realizados diariamente. Além disso, devido à simplicidade dos equipamentos necessários e à ausência da necessidade de um amplo conhecimento técnico, os métodos de diagnóstico baseados em CRISPR podem ser implementados fora de laboratórios centrais. (PALAZ, KALKAN , *et al.*, 2021)

Por tratar-se de uma nova tecnologia, os testes de ácido nucleico utilizando CRISPR/Cas ainda precisam ser melhor estudados e necessitam de centros de pesquisa com laboratórios de altíssima complexidade. No Brasil, existe uma iniciativa para a criação do primeiro centro de produção de vetores virais para tecnologia de CRISPR-Cas9 no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (LACERDA, 2022).

5.1 INFRAESTRUTURA

Como já foi abordado anteriormente, a RT-qPCR é um teste com uma metodologia complexa que exige ser realizado em um laboratório de biologia molecular dotado de equipamentos sofisticados e de alta tecnologia, com nível mínimo de biossegurança igual ou superior a 2 (NB-2), insumos de alto custo e uma força de trabalho altamente qualificada. Neste capítulo, iremos abordar a infraestrutura física, equipamentos e insumos, enquanto o tema de capacitação será descrito no capítulo 5.2.

Nível de Biossegurança 2 – NB-2: As práticas, os equipamentos, o projeto e a construção são aplicáveis aos laboratórios clínicos, de diagnóstico, laboratórios escolas e outros laboratórios onde o trabalho é realizado com um maior espectro de agente nativos de risco moderado presentes na comunidade e que estejam associados a uma patologia humana de gravidade variável. Com boas técnicas de microbiologia, esses agentes podem ser usados de maneira segura em atividades conduzidas sobre uma bancada aberta, uma vez que o potencial para a produção de borrifos e aerossóis é baixo. O vírus da hepatite B, o HIV, a salmonela e o *Toxoplasma spp.* são exemplos de microrganismos designados para este nível de contenção. O nível de Biossegurança 2 é adequado para qualquer trabalho que envolva sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas de células humanas primárias onde a presença de um agente infeccioso pode ser desconhecido. Embora os organismos rotineiramente manipulados em um Nível de Biossegurança 2 não sejam transmitidos através de aerossóis, os procedimentos envolvendo um alto potencial para a produção de salpicos ou aerossóis que possam aumentar o risco de exposição destes funcionários

devem ser conduzidos com um equipamento de contenção primária ou com dispositivos como a CSB ou os copos de segurança da centrífuga. Outras barreiras primárias, como os escudos para borrifos, proteção facial, aventais e luvas devem ser utilizados. As barreiras secundárias como pias para higienização das mãos e instalações para descontaminação de lixo devem existir com o objetivo de reduzir a contaminação potencial do meio ambiente (ANVISA, 2002, p. 103).

Um laboratório de biologia molecular (BioMol) deve dispor de áreas e espaços laboratoriais bem delimitados para as diversas etapas de execução da metodologia da RT-qPCR, desde o recebimento das amostras até a fase de detecção do produto amplificado e a interpretação dos resultados, como na COVID-19. A correta distribuição espacial do laboratório de BioMol irá interferir diretamente na acurácia dos testes, na manutenção do nível de biossegurança adequado e na segurança dos pesquisadores e técnicos usuários do laboratório.

Para o melhor entendimento da infraestrutura laboratorial, será descrito sucintamente como é realizada a metodologia de RT-qPCR para o diagnóstico da COVID-19 após a chegada da amostra biológica da nasofaringe colhida por *swab* no laboratório de BioMol, e será apresentada superficialmente a fase pré-analítica do teste.

O exame pode ser basicamente dividido em três fases distintas. A primeira fase é a extração do RNA da amostra, que pode ser realizada de maneira manual ou automatizada, seguida da sua purificação. Nos laboratórios mais avançados, ainda pode ser realizada a avaliação da pureza e concentração do RNA extraído, utilizando técnicas de espectrofotometria ou fluorometria para garantir que o RNA seja adequado para a amplificação por PCR. A próxima fase é a transcrição reversa para obtenção do DNA complementar (cDNA), necessária considerando que o material genético do SARS-CoV-2 é constituído de uma fita única de RNA e a PCR é feita somente com DNA. Consiste na síntese de uma fita de DNA utilizando-se como molde uma fita de RNA, numa reação catalisada por uma enzima denominada transcriptase reversa, com a utilização de pequenas sequências inespecíficas de nucleotídeos (oligonucleotídeos) de DNA sintetizados artificialmente, conhecidos como primers. No final, é gerado o cDNA, que será empregado na PCR. A última fase é a reação em cadeia da polimerase em tempo real (MENEZES, LIMA e MARTINELLO, 2020).

Para se realizar a terceira e última fase do teste molecular, que é a amplificação em tempo real, é necessário conhecer o genoma do vírus para a criação dos *primers*

e sondas com uma sequência de nucleotídeos do ácido nucleico do SARS-CoV-2 que são únicas e as distinguem de outros microrganismos, como, por exemplo, um coronavírus causador do resfriado comum. Desta forma, no processo de amplificação, só serão geradas cópias de material genético onde o primer específico tenha se ligado e, neste caso, no final desta fase, haverá milhões de cópias daquele material genético e, conseqüentemente, o diagnóstico positivo para o SARS-CoV-2.

Figura 5 - Sala de extração de DNA/RNA do LabMol do IPB



Fonte: Arquivo pessoal do Autor.

Na última fase do exame, o desenho dos primers e sondas é crítico e depende do conhecimento do genoma do vírus. Para isso, é necessário realizar o sequenciamento genômico, que é feito por técnicas e equipamentos de ponta. Na pandemia da COVID-19, como foi mencionado anteriormente, o lançamento público do genoma do SARS-CoV-2 foi feito muito rapidamente e permitiu o desenho célere de primers e sondas. Como o novo coronavírus adquire mutações genéticas ao longo do tempo, torna-se fundamental o monitoramento constante por meio do sequenciamento genômico. Para assegurar a precisão e confiabilidade dos resultados dos exames, são realizados controles de qualidade internos por meio de controles positivos e negativos, utilizando

amostras de controle positivo contendo RNA viral conhecido e amostras de controle negativo sem RNA viral.

A fase pré-analítica da PCR para COVID-19 é fundamental para a obtenção de resultados precisos e confiáveis. Cada etapa, desde a coleta da amostra até a preparação final, deve ser realizada com extremo cuidado e conformidade com os protocolos estabelecidos. A correta execução dessas etapas não só assegura a qualidade dos testes, mas também protege a saúde dos profissionais envolvidos e contribui para o controle eficaz da pandemia.

A primeira fase é a coleta da amostra, que pode ser obtida por meio de *swab* nasofaríngeo, que é o método mais comum e considerado padrão-ouro para a coleta de amostras para testes da PCR da COVID-19. Um cotonete é inserido através da narina até a nasofaringe para coletar secreções. Também podem ser utilizadas amostras de *swab* orofaríngeo, que é coletado da parte posterior da garganta. Em alguns casos, pode-se utilizar a saliva como amostra não invasiva.

Para a realização da coleta, os profissionais de saúde devem ser bem treinados para realizar a coleta de amostras corretamente, minimizando o desconforto do paciente e garantindo a obtenção de uma amostra adequada. Além disso, o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como máscaras, luvas, protetores faciais e aventais é essencial para proteger tanto o profissional de saúde quanto o paciente.

A próxima fase é o transporte da amostra, que depende diretamente das condições de transporte, com uma temperatura controlada entre 2°C e 8°C para preservar a integridade do RNA viral. Além disso, o tempo deve ser o mais rápido possível para evitar a degradação do RNA. As amostras devem ser processadas o mais rapidamente possível após a coleta. Nessa etapa, existe a necessidade da utilização do meio de transporte viral, que estabiliza o vírus durante o transporte.

A próxima etapa é a recepção e identificação da amostra, onde inicialmente são inspecionadas quanto à integridade do recipiente e do rótulo, assim como da temperatura em que se encontra a amostra e, posteriormente, são cadastradas no sistema informatizado do laboratório, garantindo que cada amostra seja associada corretamente ao paciente correspondente. Cada amostra deve ser claramente rotulada com informações do paciente, incluindo nome, data de nascimento, data e hora da coleta e outros identificadores relevantes.

As amostras que não puderem ser processadas imediatamente devem ser armazenadas a 2°C a 8°C por até 72 horas e, após esse prazo, devem ser congeladas a -70°C ou mais frio.

A última etapa é a preparação da amostra, onde, visando a biossegurança, antecedendo a extração do RNA, algumas amostras podem passar por um processo de inativação do vírus, que geralmente envolve o tratamento com reagentes químicos que desnaturam o vírus.

Conforme já descrito, por tratar-se de um exame de alta complexidade, com várias etapas, a RT-qPCR para o diagnóstico da COVID-19 utiliza uma enorme gama de insumos, como reagentes, enzimas, microtubos, podendo ser de baixa tecnologia e valor, como os *swabs* para a coleta, até os primers, também conhecidos como “alvos”, que são de alto valor e tecnologia e fundamentais para a sensibilidade e especificidade do exame. Entretanto, independente do valor ou complexidade de um reagente, a sua falta pode inviabilizar a realização do teste. A maioria dos insumos para a realização do RT-qPCR são importados, principalmente dos Estados Unidos da América e China, contribuindo para dificultar a realização do teste molecular. O método de RT-qPCR pode ser realizado de forma caseira (*in house*), onde o pesquisador precisa de mais processos para realizar as etapas do teste, ou comprado em conjuntos diagnósticos (*kits*) que facilitam e otimizam os processos.

Dessa forma, um laboratório de BioMol, considerando a realização dos principais processos para a realização do RT-qPCR, necessita de uma área para recebimento e separação das amostras, uma área de preparação de amostras, onde ocorre a extração do material genético e adição do DNA à reação de PCR. Esta etapa pode ser realizada com equipamento automático ou manualmente, por meio de cabine de segurança biológica NB-2 com luz ultravioleta (UV). A área de preparo de amostras deve ser mantida limpa, com uso de reagentes químicos ou físicos com a luz UV, e ter acesso restrito e controlado com a utilização de capotes descartáveis.

A área de preparação de reagentes é uma área designada para a preparação da mistura de amplificação e/ou outros reagentes requeridos. Nesta área de preparação de reagentes deve ser utilizado um fluxo laminar com luz UV e nível de biossegurança NB-2, bem como um congelador específico para as soluções. Da mesma forma que a área anterior, é recomendado restringir o acesso de pessoas e utilizar aventais descartáveis.

A área de amplificação e detecção deve ser completamente segregada das áreas anteriores, a fim de evitar contaminações. Esta área também precisa de procedimentos químicos e/ou físicos com a luz UV para inativar produtos amplificados. Recomenda-se, como contingência, a existência de um laboratório totalmente montado e equipado, que poderá ser utilizado em caso de interdição da área de preparo de amostras, já que o processo não pode ser interrompido.

São necessários diversos equipamentos para a realização da RT-qPCR, desde equipamentos básicos de um laboratório de biologia, como centrífugas, pipetas e vidraria, até os mais complexos e de grande valor econômico, como os *ultra-freezers*. O principal equipamento para a realização da detecção molecular dos vírus é o termociclador, que é responsável pela amplificação do material genético do vírus e, dessa forma, pela última etapa do complexo processo, no qual o material genético viral poderá ser detectado e quantificado e, finalmente, exarado o laudo final.

No início da pandemia, os testes moleculares eram realizados exclusivamente nos Centros Nacionais de Influenza representados pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Laboratório de Vírus Respiratórios do Instituto Evandro Chagas (IEC) e no Laboratório de Vírus Respiratórios do Instituto Adolfo Lutz (IAL). Nesse momento da pandemia, foi constatada a indisponibilidade dos testes moleculares e o surgimento de testes sorológicos com baixa acurácia. Nesse contexto de escassez, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) publicou, em março de 2020, a Resolução RDC nº 348, que estabeleceu critérios e procedimentos extraordinários e temporários para a autorização de produtos para diagnóstico in vitro da COVID-19. Essa resolução visava agilizar o processo de autorização e disponibilização de testes diagnósticos no território brasileiro como uma medida emergencial para aumentar a capacidade de testagem e diagnóstico, e autorizou o uso de kits de pesquisa de biologia molecular para a detecção da COVID-19. Essa resolução foi fundamental para o IPB do HNMD iniciar a detecção molecular precocemente, utilizando os insumos de pesquisa que possuía e emitir os laudos com os resultados obtidos.

5.2 CAPACITAÇÃO

Pode-se conceituar capacitação como um processo contínuo de desenvolvimento de habilidades, conhecimentos e competências que permitem a um indivíduo ou grupo

realizar tarefas e alcançar objetivos de maneira eficaz. Diferente da capacitação, o treinamento consiste em potencializar um conhecimento já existente, aperfeiçoando habilidades.

O conceito de treinamento pode assumir vários significados. No passado, alguns especialistas em RH consideravam o treinamento como um meio para adequar a pessoa ao seu cargo e desenvolver a força de trabalho da organização a partir do simples preenchimento de cargos. Mais recentemente, o conceito foi ampliado para considerar o treinamento como um meio para melhorar o desempenho no cargo. E quase sempre o treinamento tem sido entendido como o processo pelo qual a pessoa é preparada para desempenhar de maneira excelente as tarefas específicas do cargo que deve ocupar. Modernamente, o treinamento é considerado um meio de desenvolver competências nas pessoas para que elas se tornem mais produtivas, criativas e inovadoras a fim de contribuir melhor para os objetivos organizacionais e se tornar cada vez mais valiosas. Assim, o treinamento é uma fonte de lucratividade ao permitir que as pessoas contribuam efetivamente para os resultados do negócio. Nesses termos, o treinamento é uma maneira eficaz de agregar valor às pessoas, à organização e consequentemente aos clientes. Enriquece o patrimônio humano das organizações e é o responsável pela formação do capital intelectual das organizações. Muito embora essas três concepções de treinamento sejam aplicadas, a terceira certamente tem maior impacto e importância (CHIAVENATO, 2014, p. 310).

O treinamento é um esforço planejado por uma empresa para facilitar a aprendizagem de competências relacionadas ao trabalho pelos funcionários. Essas competências incluem conhecimentos, habilidades e comportamentos essenciais para um desempenho eficaz. O objetivo final é que os funcionários dominem esses aspectos e os apliquem em suas atividades diárias. Para que uma empresa obtenha uma vantagem competitiva, o treinamento deve ir além do desenvolvimento de habilidades básicas, sendo visto como uma forma de criar capital intelectual. Tradicionalmente, o foco do treinamento tem sido nas habilidades básicas e avançadas, mas espera-se que, no futuro, a maioria dos empregos e cargos exija uso extensivo de conhecimento e a capacidade de compartilhar e utilizar esse conhecimento de forma criativa para modificar produtos ou processos e, desta maneira, atender melhor os clientes. (NOE, 2010).

No Brasil, a execução de testes de biologia molecular é regulamentada e pode ser realizada por diferentes profissionais da saúde e ciências biológicas, de acordo com a legislação vigente e as normas estabelecidas por seus respectivos conselhos profissionais. As principais profissões competentes, com nível superior, são a dos farmacêuticos-bioquímicos com habilitação em análises clínicas ou bioquímica,

biólogos com formação e especialização em biologia molecular, médicos especializados em patologia clínica, médicos geneticistas e biomédicos com habilitação específica nessa área.

Como já foi explicado anteriormente, os métodos de detecção que utilizam técnicas de biologia molecular são muito complexos, exigindo a utilização de equipamentos de alta tecnologia e mão de obra altamente especializada. As competências necessárias para essa técnica normalmente não são adquiridas nas graduações das profissões da área de ciências da vida e, dessa maneira, o recém-graduado não está apto a realizar os exames nessa área do conhecimento.

Há programas de pós-graduação *lato* e *stricto sensu* disponíveis, especialmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, que têm como foco a formação e capacitação de profissionais da saúde nos principais conhecimentos de biologia molecular e genética laboratorial. Esses programas buscam atender à crescente demanda de laboratórios e centros de pesquisa especializados nessas áreas.. Essas pós-graduações duram, em média, dezoito meses, com uma carga horária de 360 horas, podendo ser realizadas em instituições de ensino e pesquisa privadas ou governamentais.

Não há dúvida da necessidade do profissional de nível superior para a realização de testes moleculares; entretanto, não se pode esquecer dos técnicos de laboratório, também conhecidos como tecnólogos de análises clínicas, que são profissionais fundamentais para a realização dos testes moleculares, que envolvem várias etapas e exigem perícia técnica apurada. Na área de biologia molecular, são utilizadas unidades de grandeza como microlitro (μl) e, desta forma, exigem muita habilidade do técnico para realizar os experimentos, como, por exemplo, a realização precisa da micropipetagem, para não comprometer todo o processo, levando a resultados incorretos e perda dos insumos, que muitas vezes são escassos, e atraso na liberação do laudo. No Brasil, os tecnólogos de análises clínicas também podem realizar testes de biologia molecular, desde que sob supervisão de profissionais de nível superior habilitados.

Outra importante área do conhecimento que está intimamente ligada à biologia molecular é a bioinformática. É uma área interdisciplinar que combina biologia, informática e matemática para analisar e interpretar dados biológicos. Com o advento das tecnologias de sequenciamento de nova geração, houve um aumento exponencial no volume de dados genômicos gerados, demandando métodos computacionais sofisticados para o processamento e interpretação dessas informações. A

bioinformática desempenha um papel essencial no desenvolvimento de ferramentas que permitem a análise de sequências de DNA, RNA e proteínas, facilitando a compreensão de processos biológicos complexos e a identificação de novos alvos terapêuticos (IQBAL e KUMAR, 2023).

A bioinformática é um domínio interdisciplinar de estudo que associa Estatística, Química, Engenharia, Matemática e Ciência da Computação para resolver problemas biológicos. Foi inventada por Paulien Hogeweg e Ben Hesper em 1970. É a implementação e desenvolvimento da computação para fornecer soluções para diferentes problemas e criar hipóteses para as ciências biológicas. Os estudos biológicos estão em constante expansão. A bioinformática está contribuindo para o avanço biológico ao fornecer ferramentas para lidar com grandes conjuntos de dados. O processo de bioinformática consiste em armazenar, recuperar, organizar e analisar dados complexos (IQBAL e KUMAR, 2023, p. 1522).

No Brasil, existe o Laboratório de Bioinformática (LABINFO), que realiza pesquisas em bioinformática e biologia computacional, utilizando a infraestrutura do Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC), incluindo o supercomputador Santos Dumont, um dos três únicos equipamentos do Brasil, sediado na cidade de Petrópolis, no estado do Rio de Janeiro. Está associado à Unidade de Genômica Computacional “Darcy Fontoura de Almeida”, uma instalação de sequenciamento avançado. Devido à grande quantidade de dados gerados pelo sequenciamento de DNA em larga escala, emprega técnicas de Computação de Alto Desempenho, Inteligência Artificial e *Big Data* para acelerar o processamento e análise dos dados. Com experiência em Genômica, o LABINFO destacou-se em 2020 na resposta à pandemia da COVID-19, realizando estudos de sequenciamento e análise do genoma do vírus e de amostras de pacientes infectados em colaboração com instituições nacionais, produzindo diversos trabalhos científicos que ajudaram no enfrentamento da doença, principalmente na identificação de novas variantes do SARS-CoV-2 (MCTI, 2024).

A capacitação para a área de bioinformática pode ser obtida por profissionais da área das ciências da vida, como as profissões citadas anteriormente, assim como por profissionais das áreas de ciência da computação, matemática e estatística. A capacitação também é obtida em cursos de pós-graduação com diversas durações e cargas horárias.

Após a publicação dos dados do genoma do SARS-CoV-2 no National Center for Biotechnology Information (NCBI) e no GISAID, diversos estudos baseados em análise bioinformática foram realizados, proporcionando informações valiosas para o tratamento do SARS-CoV-2. A bioinformática contribui para a compreensão da estrutura genética com a análise do genoma do SARS-CoV-2 e permitiu aos pesquisadores identificar características críticas do vírus, incluindo mutações potenciais, evolução, mecanismos e funções do vírus, além de prever possíveis epítomos. A integração da análise bioinformática com dados epidemiológicos e a escolha de um modelo animal adequado para experimentos *in vivo* é essencial para melhorar nosso entendimento e tratamento da COVID-19 (ABDELSATTA, EL-AWADL, *et al.*, 2021).

Na pesquisa intitulada Modelos preditivos para previsão de cenários de saúde pública: Experiências práticas aplicadas durante a primeira onda da pandemia de COVID-19, Moreno, Gorgojo, *et al.* (2022) concluíram que a literatura científica documenta extensivamente diversos métodos para a previsão de doenças infecciosas, muitos dos quais, apesar de serem conhecidos há décadas, foram aplicados e aperfeiçoados durante a pandemia de COVID-19. As previsões realizadas na primeira onda frequentemente ofereceram uma base robusta para a tomada de decisões, embora a previsão das ondas subsequentes tenha se mostrado mais desafiadora. Não há consenso definitivo quanto ao método de previsão mais eficaz, sendo necessário adaptar a abordagem ao contexto específico e aos objetivos prioritários. A principal dificuldade na comparação dos métodos reside no fato de que cada um foi testado em diferentes países, com fontes de informação variadas e características e estratégias distintas para o combate à doença. É essencial continuar comparando o desempenho dos modelos em situações comparáveis para avaliar sua validade preditiva. Com base nessas considerações, será provavelmente possível formular recomendações confiáveis e práticas para o uso desses modelos em futuros surtos e pandemias. (MORENO, GORGOJO, *et al.*, 2022).

5.3 GESTÃO DO CONHECIMENTO

Segundo Alavi e Leidner (2001), “a definição do conhecimento tem ocupado a mente dos filósofos desde a era clássica grega, levando a inúmeros debates epistemológicos.”

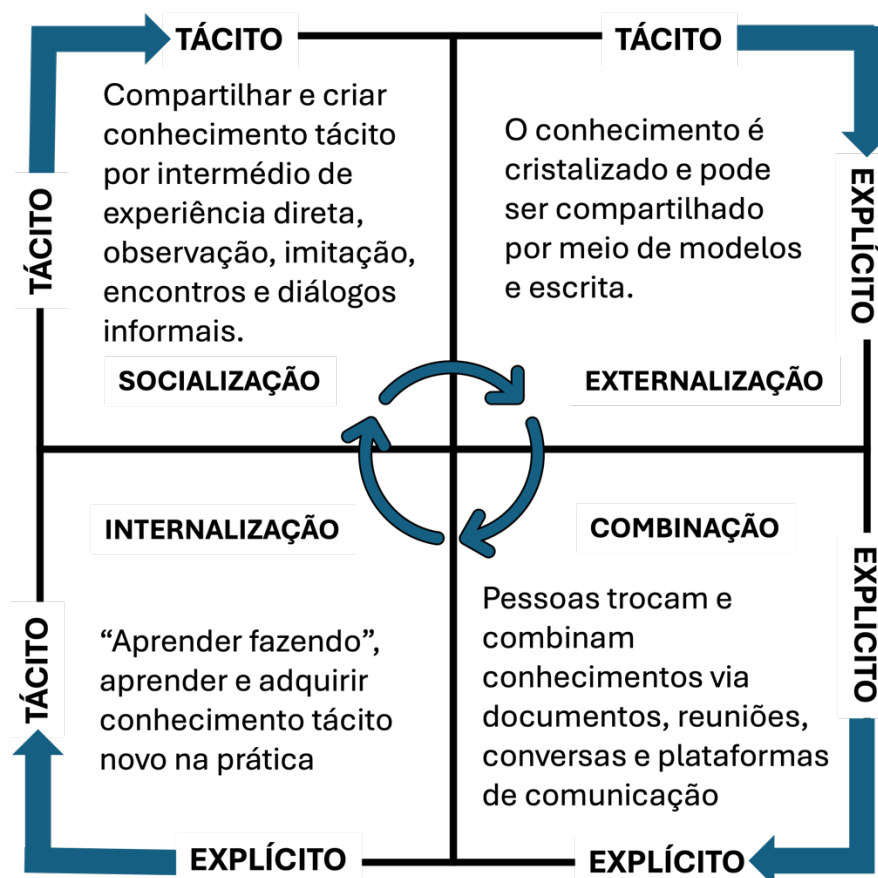
A gestão do conhecimento é um processo sistemático utilizado por organizações e indivíduos para localizar, armazenar, recuperar, compartilhar, adaptar e usar o conhecimento com o objetivo de promover os objetivos da organização. O conhecimento sempre foi considerado um poder para as organizações, e as pessoas têm constantemente registrado, armazenado e compartilhado esse conhecimento ao longo da história da humanidade. A filosofia, a educação, a economia, as ciências da informação e a biblioteconomia influenciaram a história da gestão do conhecimento. (KARAMITRI, ALIAS e BELLALI, 2015, p. 1)

Segundo Saini, Jain e Jain (2023), existem três tipos de conhecimento: o tácito, implícito e explícito. O conhecimento tácito é intuitivamente compreendido e geralmente adquirido por meio da experiência, o que torna difícil sua expressão e codificação, complicando sua transmissão para outras pessoas. Exemplos disso são habilidades linguísticas, reconhecimento facial e liderança. Embora algumas literaturas considerem o conhecimento implícito como sinônimo do tácito, a espiral do conhecimento (figura 5), conceito desenvolvido por Ikujiro Nonaka e Hirotaka Takeuchi, refere-se ao processo dinâmico de criação de conhecimento dentro das organizações. Esse modelo sugere que o conhecimento é continuamente transformado e ampliado por meio de interações sociais entre indivíduos, começando com o compartilhamento de experiências e intuições (conhecimento tácito) e culminando na formalização e sistematização desse conhecimento em documentos, procedimentos e normas (conhecimento explícito). A espiral do conhecimento passa por quatro modos de conversão: socialização, externalização, combinação e internalização, cada um deles crucial para a evolução e expansão do saber organizacional. Esse processo contínuo e cíclico é fundamental para a inovação e a capacidade competitiva das organizações. (NONAKA e TAKEUCHI, 1997).

Alguns estudiosos fazem uma distinção, afirmando que o conhecimento estratégico tem uma definição mais sutil. O conhecimento implícito, não documentado, é frequentemente chamado de *know-how* e está presente nos processos. Já o conhecimento explícito é registrado em documentos como manuais, relatórios e guias,

facilitando a transferência de conhecimento entre equipes. Exemplos disso incluem bancos de dados, *white papers* e estudos de caso. Esse tipo de conhecimento é essencial para manter e transferir o capital intelectual de uma empresa ou instituição para novos funcionários (SAINI, JAIN e JAIN, 2023).

Figura 6 - "Espiral do Conhecimento" de Nonaka e Takeuchi



Fonte: Adaptado de (SALVADOR, 1998)

A gestão do conhecimento no setor da saúde tornou-se uma área que está recebendo muita atenção, devido à necessidade premente de gerenciar a grande quantidade de informações que os profissionais do setor da saúde precisam administrar. Algumas das práticas que o setor da saúde pode adotar podem ser extraídas da aplicação de técnicas comumente usadas no mundo empresarial. Estudos mostram que certas estratégias, como abordagens de treinamento, ferramentas de comunicação, métodos de mapeamento e comunidades de prática, são as chaves do sucesso na gestão do conhecimento. No entanto, no caso da

indústria da saúde, em termos de uso e impacto dessas estratégias, os estudos empíricos são um tanto quanto limitados. (KOTHARI, HOVANEC, *et al.*, 2011).

5.4 SISTEMA DE SAÚDE DA MARINHA

Foi realizada uma pesquisa por meio de um questionário online, utilizando a plataforma Google Formulários, com um conjunto de perguntas distribuídas para os Diretores dos Hospitais e Policlínicas da MB, distribuídos por todo o território nacional, com o objetivo de coletar informações relevantes para o estudo. As perguntas foram direcionadas para a infraestrutura de detecção de material genético por meio de técnicas de biologia molecular que as OMH possuem. Complementarmente ao questionário, foram realizadas entrevistas com alguns titulares para esclarecer algumas dúvidas encontradas nas respostas dos formulários.

A pesquisa foi inicialmente endereçada a todas as três Forças Armadas e ao MD, mas, em função do baixo número de respostas e do tempo exíguo para a realização da pesquisa, optou-se por considerar somente a MB. As principais perguntas da pesquisa foram as seguintes:

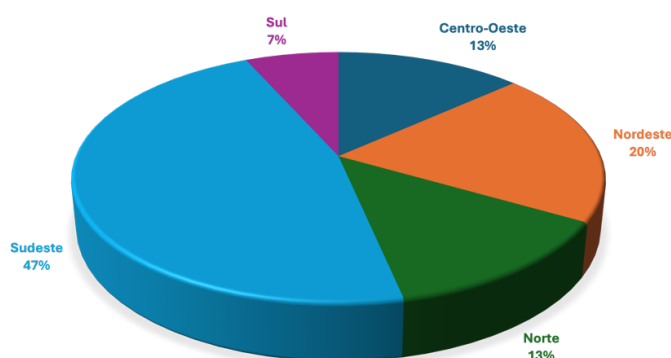
- A OM dispõe de infraestrutura para a detecção direta de material genético por meio de técnicas de Biologia Molecular?
- Qual a técnica utilizada?
- Quantos Oficiais/Servidores Cíveis com Nível Superior estão diretamente envolvidos?
- Dos Oficiais, quantos são temporários?
- Quantas Praças/Técnicos estão diretamente envolvidos?
- Quais as profissões diretamente envolvidas?
- A OM realiza o diagnóstico molecular do SARS-CoV-2?
- A OM dispõe de infraestrutura para a realização de sequenciamento genético?

A pesquisa foi respondida por quinze OM, correspondendo a 100% das OMH do SSM. Foram pesquisados o Hospital Naval Marcílio Dias, Hospital Central da Marinha (HCM), Hospital Naval de Belém (HNBe), Hospital Naval de Salvador (HNSa), Hospital Naval de Brasília (HNBra), Hospital Naval de Natal (HNNa),

Hospital Naval de Ladário (HNLa), Hospital Naval de Recife (HNRe), Policlínica Naval de Rio Grande (PNRG), Policlínica Naval Nossa Senhora da Glória (PNNSG), Policlínica Naval de Niterói (PNN), Policlínica Naval de Campo Grande (PNCG), Policlínica Naval de Manaus (PNMa), Policlínica Naval de São Pedro da Aldeia (PNSPA) e o Sanatório Naval de Nova Friburgo (SNNF).

A região Sudeste apresentou a maior concentração de unidades, correspondendo a 47% (figura 7). Os Hospitais Navais correspondem a 54% das OMH do SSM, enquanto as Policlínicas Navais correspondem a 40%, restando ao SNNF 6,7% na participação no SSM.

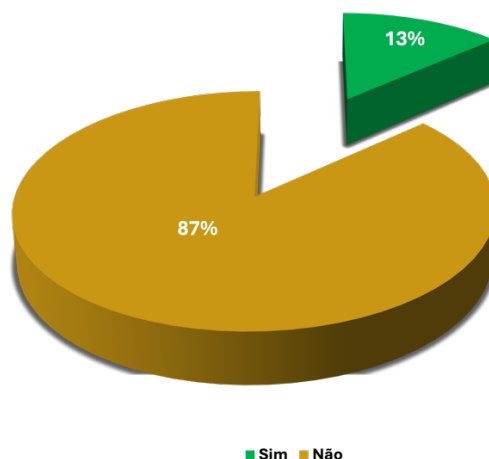
Figura 7 - Distribuição das OMH por região geográfica



Fonte: Elaboração própria.

Das quinze OMH pesquisadas, apenas duas dispunham de infraestrutura para a detecção direta de material genético por meio de técnicas de Biologia Molecular, representando 13% do total (figura 8). As OMH do SSM que realizam diagnósticos moleculares são o HNMD e o HNBra (figura 9). O HNBra, sediado na cidade de Brasília, utiliza somente a técnica de RT-PCR. O HNMD, localizado na cidade do Rio de Janeiro, por meio do IPB, é o único que, além da RT-PCR, realiza as técnicas de PCR e RT-qPCR. Nenhuma OM realiza as técnicas de RT-LAMP e CRISPR, sendo a técnica mais comum a de RT-PCR, correspondendo a 50% (figura 10).

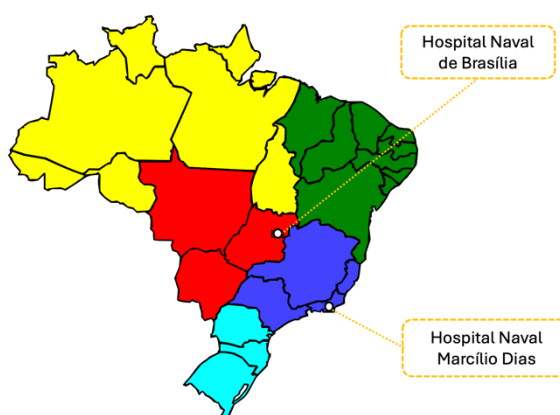
Figura 8- Percentual de OMH com infraestrutura para realizar testes de NAAT.



Fonte: Elaboração própria.

Segundo o Diretor da PNMa, a OM dispõe de equipamentos para a realização de testes com a utilização de biologia molecular, doados pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA). Entretanto, não dispõe de infraestrutura para a instalação e utilização dos equipamentos. A PNMa possui uma parceria com o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) Dra. Rosemary Costa Pinto, onde existe um acordo de cessão dos equipamentos em troca da realização dos diagnósticos com a utilização de biologia molecular, principalmente na detecção molecular do SARS-CoV-2 e outras endemias da região norte do país.

Figura 9- Hospitais da MB que realizam testes de NAAT



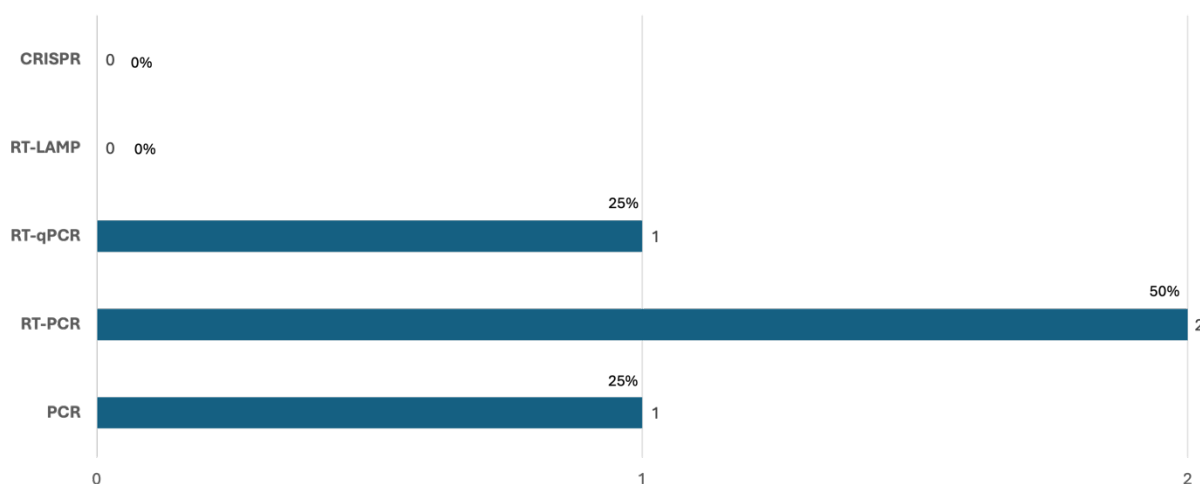
Fonte: Elaboração própria.

A força de trabalho empregada na realização dos testes moleculares é composta por profissionais formados nas áreas de farmácia, biologia e biomedicina. No HNBra, existem apenas farmacêuticos. Os dois Hospitais Navais responderam que possuem de dois a cinco profissionais envolvidos diretamente nos diagnósticos com a utilização de biologia molecular, e o número de técnicos envolvidos também é o mesmo que o dos de nível superior. A pesquisa também indicou que todos os oficiais envolvidos diretamente na detecção molecular são temporários (RM2), ou seja, só podem permanecer no serviço ativo, no máximo, por oito anos. A pesquisa identificou também que não há servidores civis, sejam de nível superior ou médio, participando dos testes envolvendo biologia molecular.

O HNBra não tinha infraestrutura para a realização da RT-PCR antes da pandemia e começou a realizar a técnica especificamente para o diagnóstico molecular da COVID-19.

Na pesquisa, quando perguntadas, as OMH que possuíam infraestrutura adequada para a realização de detecção direta de material genético por meio de técnicas de biologia molecular, se realizavam a detecção molecular do SARS-CoV-2, o HNMD respondeu que realizava desde março de 2020, enquanto o HNBra iniciou os testes em setembro do mesmo ano (figura 11).

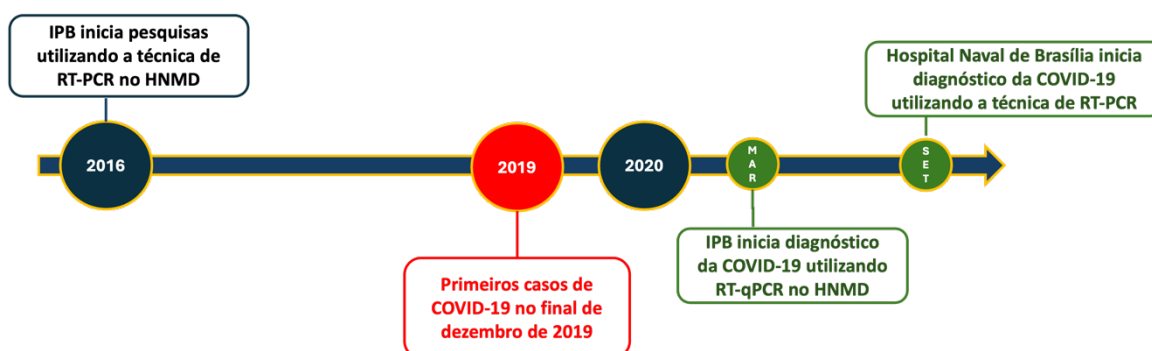
Figura 10 - Técnicas de NAAT realizadas no SSM



Fonte: Elaboração própria.

No final da pesquisa, era perguntado se a OM dispunha de infraestrutura para a realização de sequenciamento genético, e somente o HNMD respondeu positivamente, informando que havia iniciado pesquisas no mês de outubro de 2021 com a aquisição de um sequenciador considerado de baixo custo e classificado como *entry level*.

Figura 11 - Linha do Tempo do Diagnóstico Molecular da COVID-19 no SSM.



Fonte: Elaboração própria.

5.5 INSTITUIÇÕES DE PESQUISA

No Brasil, as principais instituições de pesquisa na área de biologia molecular são a FIOCRUZ, que detém, entre outros, o Laboratório de Genômica Aplicada e Bioinovações, atuando na fronteira do conhecimento científico na área de genômica (IOC, 2024). O Instituto Butantan é um dos maiores centros de pesquisa biomédica do mundo, tendo sido fundado em 1901, e assim como a FIOCRUZ, possui tecnologia avançada na área de biologia molecular, produzindo imunobiológicos. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) também se destaca nessa área, com diversas pesquisas na área de genômica e laboratórios distribuídos pelo país. Durante a pandemia, a EMBRAPA, na sua sede no Mato Grosso do Sul, passou a utilizar sua infraestrutura de laboratórios no diagnóstico de arboviroses para a detecção molecular do SARS-CoV-2. As três instituições citadas também possuem em comum laboratórios de segurança biológica NB3, que são raros no Brasil.

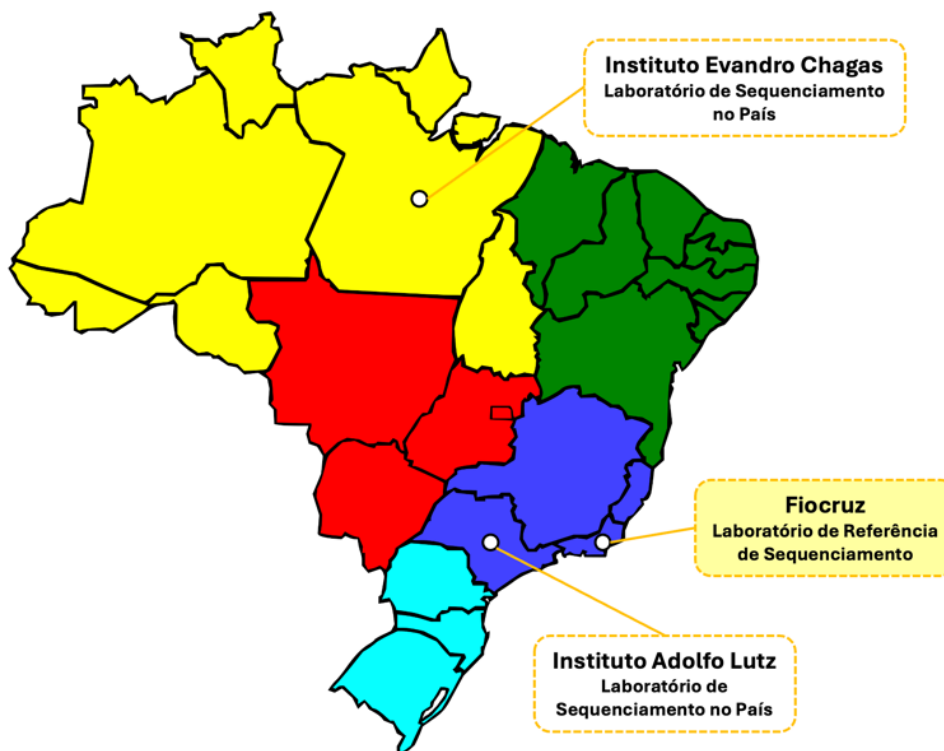
As universidades também são notáveis nessa área do conhecimento, como o Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), o

Laboratório de Virologia Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e o Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP).

Em 2020, foi criada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) a Rede Regional de Vigilância Genômica de COVID-19 (RESVIGEN) com o objetivo de não só fortalecer a capacidade de sequenciamento dos laboratórios participantes, mas também de incentivar os países a adotarem a vigilância genômica de maneira regular. Isso visa aumentar a quantidade de dados de sequenciamento disponíveis globalmente, apoiando o desenvolvimento de protocolos diagnósticos, gerando informações para o desenvolvimento de vacinas e aprimorando a compreensão da evolução molecular e dos padrões epidemiológicos do SARS-CoV-2. A estrutura da rede inclui tanto países com capacidade interna de sequenciamento quanto aqueles que enviam amostras para serem sequenciadas externamente em um dos dois Laboratórios Regionais de Sequenciamento (Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ - Brasil e Instituto de Saúde Pública/ISPCH - Chile). Além disso, a rede oferece treinamentos regionais e nacionais, bem como outras ações de suporte para gerar informações atualizadas sobre os dados de sequenciamento genômico do SARS-CoV-2. A OPAS incentiva os laboratórios a sequenciar amostras positivas de COVID-19 e a compartilhar rapidamente as informações genéticas através da plataforma GISAID. (OPAS, 2020).

O Brasil será o primeiro país da América Latina a ter um laboratório de máxima contenção biológica (NB4) e o primeiro no mundo a conectá-lo a uma fonte de luz síncrotron. Esse novo laboratório, localizado na cidade de Campinas, permitirá lidar com patógenos causadores de doenças graves. Nomeado Orion, a instalação de 20 mil metros quadrados será conectada a três linhas de luz do síncrotron Sirius, facilitando pesquisas avançadas em patógenos e posicionando o Brasil como líder global na área. Atualmente, existem cerca de 60 laboratórios NB4 no mundo, mas nenhum na América do Sul, Central ou Caribe. Serão investidos cerca de 1 bilhão de reais, com a previsão de conclusão no ano de 2026 (EBC, 2023).

Figura 12 – Distribuição dos Laboratórios Brasileiros da RESVIGEN.



Fonte: Elaboração própria.

No Brasil, temos o IAL na cidade de São Paulo e o Instituto IEC na cidade de Ananindeua, no estado do Pará, com laboratórios de sequenciamento de nova geração para SARS-CoV-2, equipados para gerar e analisar seus próprios dados de sequência genômica. A FIOCRUZ tem um laboratório de referência de sequenciamento, sediado na cidade do Rio de Janeiro, com capacidade de receber amostras e apoiar processos de sequenciamento aos laboratórios de sequenciamento externo que o requeiram dentro da rede, sequenciando suas amostras de SARS-CoV-2. Esses laboratórios também prestam apoio adicional aos laboratórios de sequenciamento no país.

5.6 LABORATÓRIOS PRIVADOS

O Brasil tem uma ampla rede de laboratórios de análises clínicas privados, bem equipados e qualificados, principalmente nas grandes capitais. Destacam-se os Grupos Dasa, que é um dos maiores grupos de medicina diagnóstica da América

Latina, com uma ampla rede de laboratórios e serviços de saúde, Grupo Fleury, Grupo Sabin, Laboratório Hermes Pardini e Laboratório Pasteur.

Apesar da infraestrutura adequada da rede privada para a realização da detecção molecular do SARS-CoV-2 por meio da técnica de RT-PCR, esses laboratórios são dependentes de insumos para a realização de testes que são automatizados e feitos em grande escala. Como descrito no capítulo 5, no início da pandemia não havia insumos específicos para o novo coronavírus, considerando o ineditismo do agente etiológico. No decorrer da pandemia, os insumos, que na maioria eram produzidos no exterior, eram escassos e conseqüentemente vendidos por um valor extremamente elevado, impactando diretamente no preço final do exame oferecido ao público.

Não demorou para que os laboratórios privados ficassem sobrecarregados. Foi veiculada em doze de janeiro de 2022 a reportagem no jornal “O Globo” intitulada “Covid-19: Sobrecarregados, laboratórios particulares do Rio suspendem agendamentos para testes RT-PCR”, exibindo as dificuldades dos pacientes em conseguir realizar os RT-PCR para a COVID-19 na rede de laboratórios particulares na cidade do Rio de Janeiro, o que representava a maioria das cidades brasileiras.

Resultado da explosão de casos de Covid-19 causada pela circulação da variante Ômicron, o acentuado aumento de testes RT-PCR realizados no Rio de Janeiro nas últimas semanas trouxe uma nova consequência para a rede particular de laboratórios da cidade. Além da demora incomum na liberação dos diagnósticos, um problema que vem sendo relatado desde a semana passada, quem deseja realizar o exame num laboratório privado agora terá de encarar o desafio de encontrar uma vaga. É que, por causa da grande demanda, diferentes laboratórios já não têm mais testes RT-PCR disponíveis para os próximos dias, e por isso fecharam a agenda para novos pacientes. (SOUZA, 2022).

A Associação Brasileira de Medicina Diagnóstica (ABRAMED) emitiu, em janeiro de 2022, por meio do seu Comitê de Análises Clínicas, uma Nota Técnica sobre o desabastecimento de insumos para testes da COVID-19 e orientava a utilização criteriosa de testes para evitar o risco de redução de oferta de exames.

[...], todavia a Abramed alerta que, assim como em outras partes do mundo, a alta demanda de exames laboratoriais para o diagnóstico da Covid-19 trouxe ao setor de medicina diagnóstica brasileiro a preocupação com a falta de insumos necessários para a realização desses exames. A alta transmissibilidade da nova variante Ômicron causou aumento exponencial de casos, o que vem demandando significativo aumento da capacidade produtiva global de testes, tanto de PCR como de antígeno, e se os estoques não forem recompostos rapidamente poderá ocorrer a falta de oferta de exames. Quando avaliamos as notícias que vêm de outros países, de que eles já estão sem insumos, é certo que o problema chegará ao Brasil, não sendo possível mensurar nesse momento até quando poderemos atender, pois os estoques são variados dependendo do laboratório e da região, mas há um risco real de desabastecimento (ABRAMED, 2022).

5.7 LABORATÓRIOS PÚBLICOS

O Brasil possui vinte e sete LACEN, abrangendo todas as unidades federativas do país, e três Centros Nacionais de Influenza, do inglês *National Influenza Centre* (NIC), credenciados na OMS, que fazem parte do Sistema de Vigilância e Resposta Global à Influenza, do inglês *Global Influenza Surveillance and Response System* (GISRS). Os NIC são o Laboratório de Referência Nacional localizado na FIOCRUZ, no Rio de Janeiro, e os dois Laboratórios de Referência Regional, o IAL em São Paulo e o IEC no Pará. Além das instituições citadas, existem laboratórios colaboradores, capacitados a realizar testes diagnósticos para a detecção do SARS-CoV-2 pela metodologia RT-PCR em tempo real. O Ministério da Saúde foi o órgão responsável por toda a coordenação e logística dos LACEN, realizando a aquisição e distribuição dos insumos aos laboratórios distribuídos pelos estados e procedendo ao monitoramento dos itens fornecidos.

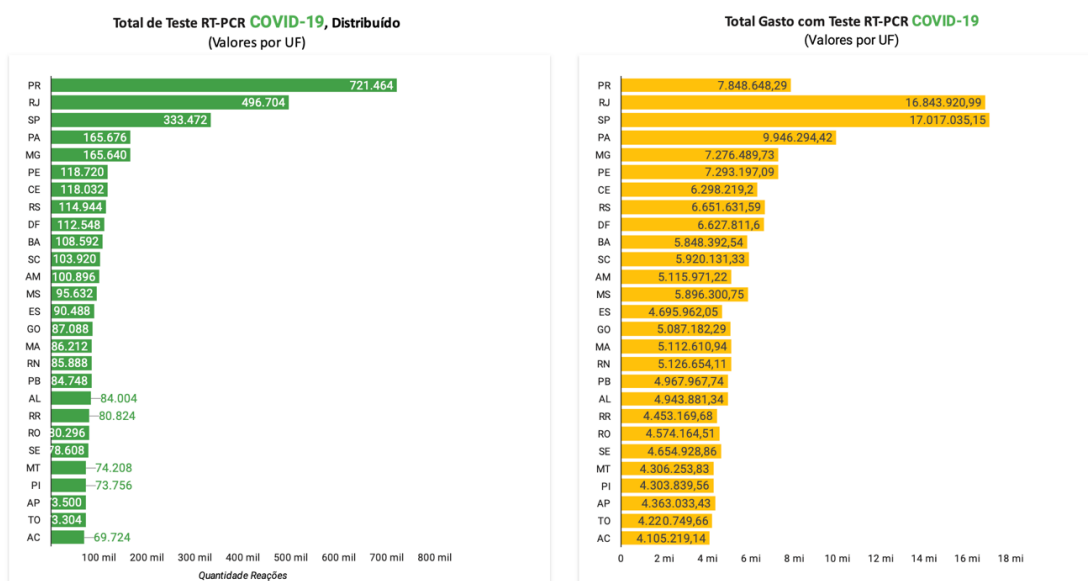
O diagnóstico laboratorial da COVID-19 por intermédio das técnicas de biologia molecular começou de maneira limitada. Iniciou no mês de fevereiro de 2020, sendo realizado exclusivamente nos NIC. A partir de março de 2020, houve uma expansão significativa desse diagnóstico. Os LACEN nos estados receberam treinamento especializado dos NIC e foram abastecidos com os insumos necessários para realizar a metodologia de RT-PCR. Essa expansão permitiu que mais laboratórios estivessem aptos a realizar testes diagnósticos, aumentando assim a capacidade de detecção e resposta à pandemia em nível estadual. O LACEN da Bahia, por exemplo, que antes da pandemia realizava cerca de 400 exames/mês de RT-PCR para detecção de vírus respiratórios, atingiu, no final de 2020, 4 mil exames/mês para diagnóstico laboratorial

da COVID-19, representando um crescimento de 1.000% (PEREIRA, MELLO, *et al.*, 2021).

Convém salientar que, na Bahia, o LACEN-BA já utilizava a metodologia RT-PCR para outros vírus respiratórios, de modo que existia uma capacidade técnica com condições para absorver a transferência dessa tecnologia sem comprometer os processos e fluxos de trabalho instituídos na rotina laboratorial. Contudo, o grande desafio que se impunha, naquele momento, consistia em ampliar a capacidade instalada e operacional para atender a demanda crescente, uma vez que esse era o único exame disponível para o diagnóstico laboratorial para COVID-19 no Brasil e na Bahia (PEREIRA, MELLO, *et al.*, 2021, p. 190).

No mês de julho de 2020, desde o início da pandemia, o Ministério da Saúde já havia ampliado em 869% a capacidade de realização de exames RT-PCR na Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. Desde o início da epidemia de COVID-19, o Ministério da Saúde, através da Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública, adquiriu insumos para a realização de RT-PCR em tempo real para a detecção do vírus SARS-CoV-2. Entre 5 de março e 30 de junho de 2020, foram distribuídas 3.878.888 reações de RT-qPCR para os vinte e sete LACEN, três NIC e laboratórios colaboradores. Os LACEN que receberam o maior número de reações de RT-qPCR foram os do Paraná e do Rio de Janeiro (figura 13) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Figura 13 – Distribuição de reações de RT-PCR para COVID-19 por Estado



Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020)

[...] uma vez que, entre os meses de maio e julho, houve um rápido aumento dos números de infectados e de óbitos. Esse cenário aumentou a demanda de testagem em todos os laboratórios de referência, inclusive no Lacen-PE, que já não conseguia mais realizar as liberações de grande parte dos laudos em tempo hábil (PEREIRA, ROSA, *et al.*, 2021, p. 395).

Apesar dos esforços para a ampliação da detecção molecular do SARS-CoV-2 pelos LACEN, NIC e laboratórios colaboradores, implementados pelo Ministério da Saúde, assim como ocorreu na rede laboratorial privada, houve sobrecarga na rede pública, trazendo atrasos na liberação dos laudos e aumento do prazo para a realização do exame.

5.8 INSTITUIÇÕES DE PESQUISA DAS FORÇAS ARMADAS

Neste capítulo, serão abordadas as principais instituições de pesquisa na área biomédica no âmbito das Forças Armadas e do MD que possuem linhas de pesquisa voltadas para a área de biologia molecular. Não foram identificadas instituições de pesquisa nessa área do conhecimento na Força Aérea Brasileira.

5.8.1 Instituto de Biologia do Exército

O Instituto de Biologia do Exército (IBEx) é uma Unidade Militar de saúde do Exército Brasileiro, com sede situada no bairro de Triagem, na cidade do Rio de Janeiro, que abriga os setores técnicos e administrativos, e a área de produção veterinária, denominada Subdivisão de Produção, que se encontra no Campo de Instrução de Gericinó, na Avenida Brasil. Recentemente, realizou uma grande modernização laboratorial e investimentos na qualificação dos profissionais do Instituto, trazendo ao Exército Brasileiro a capacidade diagnóstica de detecção de mutações e doenças utilizando moléculas de ácidos nucleicos, os chamados DNA e RNA. A partir da clonagem de pequenos fragmentos desses ácidos nucleicos, o IBEx passou a oferecer um diagnóstico de alta sensibilidade, especificidade e de última geração (IBEX, 2024).

O IBEx dispõe de pós-graduação *stricto sensu* na forma de Mestrado em Defesa Biológica. As linhas de pesquisa em Defesa Biológica incluem três áreas principais. A Microbiologia abrange Bacteriologia, Virologia e Micologia, estudando

aspectos como morfologia, ecologia, genética, bioquímica de bactérias, propriedades dos vírus, imunologia viral, vacinas, métodos de diagnóstico, controle de infecções e fungos de importância médica, incluindo métodos de análise, diagnóstico, epidemiologia e patogenia. A Biotecnologia se concentra em indivíduos com maior suscetibilidade a doenças ou risco de complicações devido a transplantes, imunodepressão ou exposição a agentes infecciosos, com foco em processos biotecnológicos para atendimento desses pacientes. A Genética Molecular dedica-se ao estudo e aplicação de técnicas de biologia molecular, visando benefícios em Defesa Biológica e contribuindo para a compreensão de genomas de microrganismos, animais, vegetais e humanos (IBEX, 2024).

O IBEx tem experiência na área de Genética Forense, apoiando a formação de peritos criminais militares, abordando temas como análise de DNA forense, técnicas de coleta, armazenamento e transporte de vestígios biológicos, cadeia de custódia, entre outros tópicos.

O IBEx desempenhou um papel crucial no combate à pandemia do SARS-CoV-2 desde que os casos começaram a ser divulgados em janeiro de 2020. Equipes compostas por militares especializados e treinados conduziram a coleta de material biológico de pacientes suspeitos e realizaram o diagnóstico molecular da COVID-19 utilizando a metodologia de RT-PCR em tempo real, conforme o protocolo de referência do Ministério da Saúde.

5.8.2 Divisão de Pesquisa do HFA

O Hospital das Forças Armadas (HFA) realiza atividades de pesquisa por meio da Divisão de Pesquisa, subordinada à Direção Técnica de Ensino e Pesquisa (DTEP). São realizados diferentes tipos de estudos, tais como pesquisas acadêmicas, clínicas e experimentais, com a participação de outros centros de pesquisa ou Instituições de Ensino. O hospital conta com um Laboratório de Cirurgia Experimental para a realização de pesquisas experimentais e para o treinamento de técnicas cirúrgicas. Desde 2018, a Divisão de Pesquisa do HFA desenvolve pesquisa sobre câncer de mama com a utilização da técnica de PCR. Durante a pandemia, o HFA estabeleceu cooperação técnico-científica com o Laboratório de Tecnologias para Terapia Gênica da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade

de Brasília (UnB). Pesquisadores da UnB realizaram o treinamento da equipe da Divisão de Pesquisa do HFA para a adoção da técnica de RT-PCR, o que permitiu ao HFA realizar a detecção molecular do SARS-CoV-2 logo no início da pandemia.

Em julho de 2021, o HFA, em colaboração com a Universidade Federal de Goiás (UFG), estabeleceu um laboratório dedicado à vigilância de arboviroses em Brasília, com a finalidade de monitorar essas doenças. O laboratório atua como uma unidade sentinela, conduzindo testes moleculares de RT-PCR para a detecção e monitoramento de doenças causadas por arbovírus. As arboviroses de maior relevância no contexto epidemiológico brasileiro incluem Dengue, Zika, Chikungunya, Febre Amarela, Febre Mayaro, Febre Oropouche, Febre do Nilo Ocidental e Encefalite de Saint Louis. A classificação "arbovírus" engloba todos aqueles transmitidos por artrópodes, ou seja, insetos e aracnídeos.

Conforme destacado pela Tenente-Coronel Adriana Pinheiro, "As Forças Armadas estão presentes em todo o território nacional e em diversos países. Essa capilaridade faz com que seja imprescindível, sobretudo para um hospital de alta complexidade, a capacidade de realizar diagnóstico de doenças infecciosas e doenças exóticas, muitas vezes com sintomatologias similares a outras". O laboratório tem a finalidade de realização de pesquisas, sendo o primeiro projeto de pesquisa com técnicas de biologia molecular realizado por essa instituição. Utiliza a expertise obtida durante a pandemia da COVID-19 no teste molecular de RT-PCR para a detecção do SARS-CoV-2 (MINISTÉRIO DA DEFESA, 2024).

5.8.3 Instituto de Pesquisas Biomédicas

O IPB, situado no complexo hospitalar do HNMD e subordinado diretamente ao Diretor do hospital, realiza pesquisas na área da saúde de interesse da Marinha do Brasil, alinhadas às diretrizes de Ciência, Tecnologia e Inovação da MB. Fundado pelo Almirante Heraldo Maciel como Instituto Naval de Biologia, o IPB foi um centro de pesquisas experimentais e produção de produtos biológicos, além de estudar doenças infecciosas e parasitárias, destacando-se na década de 1930.

Em 2009, novas instalações foram inauguradas e, em janeiro de 2012, o IPB contribuiu significativamente para o reconhecimento do Hospital Naval Marcílio Dias como Instituição de Ciência, Tecnologia e Inovação. O instituto conta com laboratórios

de Bioanálises, Biologia Molecular, Biologia Celular, Microcirurgia e Cirurgia Experimental, além de um moderno Centro de Simulação e biotérios para experimentação com murinos e peixes-zebra. Sua infraestrutura avançada permite atividades técnico-científicas e treinamentos em medicina, prospecção de produtos naturais e epidemiologia molecular de arboviroses.

O laboratório de biologia molecular, criado em 2016 com apoio da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e do HNMD, iniciou pesquisas sobre neoplasia maligna de colo de útero relacionada ao *human papillomavirus* (HPV), utilizando RT-PCR, e expandiu suas colaborações com o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Em fevereiro de 2020, já no âmbito da Operação “Grande Muralha”, o IPB recebeu a desafiadora missão de realizar o diagnóstico molecular da COVID-19 devido à escassez de testes disponíveis, especialmente na área do Grande Méier, onde o HNMD está situado. Apesar da infraestrutura modesta e do número limitado de pesquisadores, o IPB adaptou rapidamente suas instalações, adquiriu novos equipamentos e elevou o nível de biossegurança para NB2+.

A aquisição dos equipamentos de alta tecnologia voltados para os testes de biologia molecular foi obtida com muita dificuldade em função da escassez desses no mercado. Foi realizada reengenharia do pessoal, mobilizando pesquisadores de outras áreas para atuar na biologia molecular. Parcerias com universidades e institutos de pesquisa foram fundamentais, destacando-se a colaboração com o Prof. Dr. Amílcar Tanuri da UFRJ.

Em 13 de março de 2020, o IPB recebeu sua primeira amostra para diagnóstico de COVID-19 via RT-qPCR. Inicialmente, os testes eram realizados de forma *in house*, com dependência científica do laboratório da UFRJ. Com o tempo, kits de diagnóstico começaram a ser comercializados, permitindo maior autossuficiência, embora sujeitos a desabastecimentos devido à alta demanda e mercado conturbado.

As dificuldades para a obtenção dos insumos eram muito grandes e afetavam tanto os insumos de alta complexidade quanto os mais simples. Como exemplo, o IPB precisou desenvolver o seu próprio meio de armazenamento para as amostras biológicas para evitar a interrupção na realização dos testes moleculares.

Igualmente, como na obtenção de material e insumos, houve grande dificuldade em encontrar profissionais de nível superior e técnico com conhecimento na área de biologia molecular no HNMD. A parceria com as universidades também contribuiu para

o recrutamento e contratação temporária, pelo IPB, de ex-alunos oriundos dos programas de pós-graduação stricto sensu com expertise na área de biologia molecular, possibilitando a ampliação da realização de testes para o diagnóstico da COVID-19.

O IPB aumentou sua capacidade analítica e metodológica, realizando até 100 exames diários. Ainda em 2020, criou o Núcleo de Apoio à Pesquisa Clínica em COVID-19. Este núcleo permitiu a participação em editais de fomento, colaborações científicas com diversos centros de excelência e a captação de R\$ 750.000 em recursos extra-MB. Destaca-se também a aquisição de um sequenciador, o SeqStudio da ThermoFisher Scientific, que é um sistema de eletroforese capilar de fluorescência que permite a análise genética, incluindo sequenciamento de DNA e análise de fragmentos. O equipamento utiliza a tecnologia de sequenciamento Sanger, também conhecida como método de terminação de cadeia, uma técnica amplamente utilizada para determinar a sequência de nucleotídeos em uma molécula de DNA. A aquisição do sequenciador permitiu ao IPB iniciar pesquisas utilizando o sequenciamento genômico, dando um grande passo para dominar essa tecnologia.

6 SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

Nas primeiras duas décadas do século XXI, a genômica viral revolucionou a investigação de surtos de doenças, permitindo análises epidemiológicas quase em tempo real. Esse avanço foi impulsionado pela redução dos custos e do tempo de resposta do sequenciamento, pelo aumento na quantidade de dados gerados e pela capacidade computacional aprimorada, além do desenvolvimento de equipamentos de bancada acessíveis e eficientes. Como resultado, o sequenciamento tornou-se essencial na microbiologia clínica para a detecção e caracterização de patógenos virais, controle de infecções, investigações epidemiológicas e compreensão das respostas virais a vacinas e tratamentos (OPAS, 2021).

A crescente importância do sequenciamento genômico viral é demonstrada pela comparação entre a resposta à epidemia de SARS (2002-2003) e à pandemia de COVID-19. Durante a epidemia de SARS, apenas três genomas virais foram compartilhados no primeiro mês, enquanto na pandemia de COVID-19, o patógeno foi identificado em uma semana e seis genomas foram disponibilizados publicamente em

janeiro de 2020. Isso possibilitou o rápido desenvolvimento de testes diagnósticos e estratégias de sequenciamento genômico. Em seis meses, mais de 60.000 genomas virais quase completos do SARS-CoV-2 foram disponibilizados, ajudando a entender a disseminação do vírus (OPAS, 2021).

Avanços recentes permitiram que os genomas do SARS-CoV-2 fossem sequenciados horas ou dias após a identificação de um caso. Como resultado, pela primeira vez, o sequenciamento genômico em tempo real foi capaz de orientar a resposta da saúde pública a uma pandemia (OPAS, 2021).

O sequenciamento metagenômico foi fundamental para a detecção e caracterização do novo patógeno. O compartilhamento precoce das sequências do genoma do SARS-CoV-2 permitiu que ensaios de diagnóstico molecular fossem desenvolvidos rapidamente, o que melhorou a preparação global e contribuiu para o projeto de contramedidas. O sequenciamento rápido e em grande escala do genoma do vírus está contribuindo para a compreensão da dinâmica das epidemias virais e para a avaliação da eficácia das medidas de controle (OPAS, 2021, p. 10).

Conforme o SARS-CoV-2 continua a passar por mudanças genéticas durante a pandemia, a produção contínua e o compartilhamento de genomas virais são cruciais para acompanhar a eficácia dos variados testes de diagnóstico em diferentes locais. Desajustes entre os primers ou sondas e os locais de ligação nos genomas do SARS-CoV-2 podem diminuir a sensibilidade dos NAATs ou levar a resultados falsos negativos. Esse acompanhamento é particularmente importante caso uma variante seja identificada em vírus filogeneticamente relacionados.

O sequenciamento genômico apresenta diversas vantagens, como a identificação do patógeno, conforme foi feito na pandemia da COVID-19, quando os pesquisadores chineses LIU, XIAO, et al. (2020) identificaram e sequenciaram de forma independente o SARS-CoV-2 utilizando diversas abordagens de sequenciamento metagenômico de nova geração. Também permite a determinação das épocas de origem e diversificação inicial, determinando quando o SARS-CoV-2 surgiu em humanos, sendo crucial para entender a possibilidade de transmissão não detectada antes dos primeiros casos clínicos. Estudos de datação molecular sugerem que o ancestral comum mais recente do SARS-CoV-2 apareceu entre novembro e dezembro de 2019, coincidindo com os primeiros casos de pneumonia em Wuhan. Embora se saiba com certeza que o SARS-CoV-2 tem origem animal, assim como o SARS-CoV e o MERS-CoV, a identificação da espécie exata que o originou requer

mais amostragens de uma grande variedade de animais não humanos. É possível que as origens precisas do vírus nunca sejam totalmente esclarecidas.

O sequenciamento permite a compreensão da biologia do vírus, identificando qual receptor hospedeiro é utilizado para a replicação viral. No caso do SARS-CoV-2, indicou-se que provavelmente usa o mesmo receptor celular que o SARS-CoV de 2002-2003, a enzima conversora de angiotensina 2. Ademais, possibilita a identificação de sítios genômicos candidatos que podem causar alterações fenotípicas e o aparecimento das variantes virais.

O sequenciamento genético contribui para o aprimoramento do diagnóstico e da terapêutica. No diagnóstico molecular, possibilitou a criação de primers e sondas que se ligam de forma eficaz ao ácido nucleico do SARS-CoV-2, utilizando sequências complementares precisas ou quase precisas, evitando a ligação a outros coronavírus comuns. Diversos NAATs para o SARS-CoV-2 foram desenvolvidos e validados por diferentes grupos poucos dias após a liberação inicial do genoma. A utilização dessa técnica é fundamental para o desenvolvimento de imunobiológicos que utilizam antígenos ou RNA mensageiro (mRNA)/DNA para estimular a produção de anticorpos e respostas celulares. As vacinas iniciais de mRNA foram desenvolvidas exclusivamente com base nos genomas do SARS-CoV-2 disponíveis publicamente. Da mesma forma, é pivotal para o desenvolvimento de novos medicamentos antivirais e para apoio à terapia antiviral (OPAS, 2021).

No que tange à investigação da transmissão e disseminação do vírus, o sequenciamento genético por meio da análise filogenética, que coloca as sequências dentro de uma árvore filogenética, pode ser utilizado para investigar hipóteses sobre rotas de transmissão do vírus, determinar se as infecções resultaram de transmissão local ou foram importadas e até mesmo estabelecer estratégias para mitigar a propagação do patógeno.

7 BIOTERRORISMO E ARMAS BIOLÓGICAS

O conceito de bioterrorismo envolve a liberação intencional de vírus, bactérias ou outros microrganismos para causar doenças ou mortes em pessoas, animais ou plantas. Esses agentes, geralmente naturais, podem ser modificados para aumentar sua virulência, resistência a medicamentos ou capacidade de disseminação no ambiente. Eles podem ser dispersos pelo ar, água ou alimentos e são difíceis de detectar, podendo levar horas ou dias para causar sintomas (CDC, 2006).

Segundo a OMS (2024), “Armas biológicas e de toxinas são microrganismos como vírus, bactérias ou fungos, ou substâncias tóxicas produzidas por organismos vivos que são deliberadamente produzidas e liberadas para causar doenças e mortes em humanos, animais ou plantas”. As armas biológicas fazem parte de uma categoria maior de armamentos, frequentemente chamada de armas não convencionais ou de destruição em massa, que também abrangem armas químicas, nucleares e radiológicas.

Historicamente, as ameaças biológicas representaram óbices relevantes para o desenvolvimento da civilização. Desde tempos remotos, a humanidade procurou maneiras eficazes de neutralizar seus inimigos, recorrendo a táticas como envenenar fontes de água e usar cadáveres de pessoas infectadas para espalhar doenças. O evento mais antigo descrito ocorreu em 1346, quando os tártaros, durante o cerco de Kaffa, utilizaram esse método, resultando em uma epidemia de peste na Europa. No século XVI, Francisco Pizarro usou cobertores contaminados com varíola contra os Incas. Em 1763, o capitão inglês Simeon Ecuier empregou a mesma tática contra tribos na América do Norte, provocando uma epidemia. No início do século XX, foi iniciada a produção de armas biológicas eficazes. Durante a Primeira Guerra Mundial, a Alemanha contaminou gado e ovelhas com *Bacillus anthracis* e cavalos com *Burkholderia mallei*, causando mortes tanto de animais quanto de humanos (MICHALSKI, KNAP, *et al.*, 2022).

Grandes epidemias de doenças infecciosas incuráveis causaram o colapso de muitas sociedades, moldaram o curso das guerras e determinaram o progresso da humanidade. O progresso científico dos séculos XIX e XX na descoberta das reais causas dessas doenças, bem como no diagnóstico, prevenção, tratamento e controle, foi um marco para a civilização moderna. As conquistas em microbiologia e vacinologia estão ao lado da invenção da máquina a vapor e da exploração da eletricidade como instigadoras do rápido crescimento demográfico concomitante ao desenvolvimento industrial e econômico (MICHALSKI, KNAP, *et al.*, 2022, p. 1).

Em que pese as proibições internacionais, como o Protocolo para a Proibição do Uso em Guerra de Gases Asfixiantes, Tóxicos ou Similares, e de Métodos Bacteriológicos de Guerra, adotado em 17 de junho de 1925, as pesquisas sobre armas biológicas continuaram até o fim da Segunda Guerra Mundial. O programa japonês, comandado pelo General Shiro Ishii, desenvolveu vários agentes biológicos e testou-os em prisioneiros de guerra. Após a guerra, os EUA, o Reino Unido e a URSS também se dedicaram a pesquisas sobre armas biológicas. Nos EUA, foi criado um grande arsenal em Camp Detrick, mas, a partir de 1971, durante o governo Nixon, iniciou-se o desarmamento e a destruição dessas armas. No Reino Unido, experimentos na ilha de Gruinard contaminaram o local por décadas. A Convenção sobre Armas Biológicas e Toxinas de 1972, que entrou em vigor em 1975, não conseguiu eliminar completamente as ameaças biológicas. A URSS continuou com seus programas de armas biológicas, como demonstrado pelo incidente em Sverdlovsk em 1979. Ken Alibek revelou que o programa soviético, com milhares de especialistas, produziu toneladas de agentes de guerra biológica. (MICHALSKI, KNAP, *et al.*, 2022).

O CDC divide os agentes biológicos em três categorias, conforme critérios que determinam sua potencialidade para serem utilizados como arma biológica. Dentre esses critérios estão a virulência, patogenicidade, dose infectante, modo de transmissão, morbidade, letalidade, período de incubação, estabilidade e potencial em se tornar endêmico. Nessa classificação, as doenças infecciosas emergentes, como o vírus Nipah, o hantavírus e o SARS-CoV-2, estão na terceira categoria, sendo os agentes de maior gravidade, considerando que poderiam ser manipulados para disseminação em massa no futuro devido à sua disponibilidade, facilidade de produção e disseminação, e potencial para altas taxas de morbidade e mortalidade e grande impacto na saúde pública. (CDC, 2006).

Um ataque utilizando o bioterrorismo pode mimetizar um evento natural, podendo não ser evidente imediatamente. Na maioria dos casos, os profissionais de saúde relatarão um padrão de doenças incomuns ou haverá uma onda de pessoas doentes buscando atendimento médico de emergência. Dessa maneira, pode dificultar a avaliação e resposta dos órgãos de saúde pública e vigilância epidemiológica (LAKSHMI, 2020).

A evidência mais importante de um ataque bioterrorista é o aparecimento de grupos de doentes de forma simultânea (em intervalos de horas ou poucos dias) com quadro clínico similar, sintomas graves (especialmente entre jovens com bom estado de saúde), resistência atípica a antibióticos, fracasso ao tratamento habitual, evolução da doença de forma atípica ou mais grave, distribuição sazonal ou geográfica anômala da doença, casos agrupados simultâneos em áreas não contíguas, casos em um mesmo ambiente (sistemas de ventilação comuns) e reivindicação por grupo terrorista

(CARDOSO e VIEIRA, 2015, p. 1143)

Há diversos critérios para distinguir surtos naturais de doenças infecciosas daqueles que podem ser decorrentes de um ataque bioterrorista. Esses critérios englobam padrões temporais de início, número de casos, período de incubação, sintomas, resistência a antimicrobianos, morbidade, mortalidade, localização e distribuição geográfica, distribuição sazonal, potencial zoonótico, infectividade residual, persistência ambiental e patogenicidade, além da identificação de atividades terroristas relevantes (CARDOSO e VIEIRA, 2015).

O 20º aniversário dos ataques terroristas de 11 de setembro de 2001 resultou em uma profunda reflexão nacional. Menos lembrados são os eventos que começaram a se desenrolar 7 dias depois, quando cartas anônimas com esporos mortais de antraz (*Bacillus anthracis*) começaram a chegar em instalações postais, empresas de mídia e escritórios congressionais. A primeira morte por exposição ao antraz inalado ocorreu em 5 de outubro, com mais 4 mortes e 17 infecções nos meses seguintes. Os ataques com antraz expuseram um sistema de saúde mal preparado para responder a emergências agudas (GOSTIN e NUZZO, 2021, p. 2009).

O fato de o surto ter surgido na cidade onde funciona o Instituto de Virologia de Wuhan, onde a virologista chinesa Shi Zheng Li, também conhecida como "Mulher Morcego", desenvolvia pesquisas com coronavírus sintéticos que infectavam humanos, gerou muitos questionamentos acerca da origem da pandemia.

Em novembro de 2015, Zheng Li publicou outro artigo no *British Nature Medicine Journal* sobre um vírus autorreplicante derivado do vírus SARS. Este vírus era transmissível entre espécies. O sucesso de Shi Zheng Li na recombinação do vírus SARS foi crucial para abrir a porta para a transmissão entre espécies. Sua decisão de pesquisar em primatas sugere que isso estava mais próximo de simular a infecção de humanos com esse novo vírus sintético (GOYAL e SHARMA, 2020).

Após o surto em Wuhan, cientistas observaram semelhanças únicas nas inserções da proteína *spike* do 2019-nCoV com as proteínas gp120 e gag do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Comparando a sequência da proteína 'S' entre o

nCoV-2019 e o SARS, encontraram quatro novas sequências no nCoV-2019 que também estavam presentes no HIV. Apenas três vírus apresentavam todas essas quatro sequências: HIV, um coronavírus descoberto em morcegos e o novo nCoV-2019 (GOYAL e SHARMA, 2020).

Até aquele momento, persistiam dúvidas sobre a origem da pandemia de COVID-19. Entretanto, alguns autores questionaram se o SARS-CoV-2 era um vírus de morcego ou se havia sido criado artificialmente por meio de uma mutação no vírus de morcego. Outra teoria aventada foi o vazamento acidental do vírus no Instituto de Virologia de Wuhan. Também foi considerado como um possível resultado dos experimentos com armas biológicas.

8 CONCLUSÃO

Historicamente, as doenças infecciosas emergentes, sobretudo as viroses, como a influenza aviária e a pandemia de gripe de 1918, e mais recentemente a pandemia da COVID-19, demonstraram a capacidade devastadora desses patógenos. Dados do Ministério da Saúde até primeiro de agosto de 2024 revelaram 712.769 óbitos acumulados somente no Brasil. Fatores como o crescimento populacional, urbanização, viagens internacionais e mudanças ambientais, mutações e manipulação de microrganismos contribuíram para a emergência dessas doenças, aumentando a complexidade do seu controle.

Há mais de dez anos antes da pandemia da COVID-19, pesquisadores já relatavam que o surto de SARS de 2002 seria um “ensaio geral” para uma pandemia de etiologia viral. A emergência da COVID-19 concretizou essas previsões, demonstrando a rápida disseminação de um novo coronavírus, o SARS-CoV-2, e seu impacto trágico na saúde pública global. Em onze de março de 2020, o Diretor-Geral da OMS declarou que a organização elevou o estado da contaminação à pandemia de COVID-19.

Em 23 de maio de 2024, a autoridade de saúde do México comunicou à OMS o primeiro caso de infecção humana causada pelo vírus da influenza aviária A, mais uma vez havendo a transposição da barreira da espécie. É praticamente unânime na comunidade científica que a ocorrência de uma nova pandemia é certa, sendo a temporalidade a única incerteza.

Quando focamos no ambiente operacional da MB, as dificuldades apresentadas em função da propagação das doenças infecciosas nos meios operativos são muito maiores do que na sociedade de modo geral. A última crise sanitária enfrentada pela MB foi no final da Grande Guerra, durante a pandemia de influenza de 1918, que destacou a ameaça contínua de infecções a bordo de navios de guerra e evidenciou a importância das condições de vida em ambientes confinados na propagação de doenças, com impactos diretos na prontidão da Força.

A análise realizada na Marinha estadunidense mostrou vulnerabilidades na prontidão para responder a eventos médicos de grande escala, sendo preciso melhorias na coordenação da resposta, assim como o aumento dos recursos médicos nos navios quando necessário.

A MB respondeu à pandemia da COVID-19 de maneira rápida e eficaz, com o estabelecimento, logo no início da doença infecciosa, da operação “Grande Muralha”, com ações coordenadas nas áreas logística, incluindo o SSM e operativa. Dessa forma, conseguiu manter sua capacidade operativa e o preparo de seus meios para cumprir sua missão constitucional.

Durante a pandemia, o diagnóstico confirmatório da COVID-19 representou um desafio global, especialmente devido à escassez inicial de informações técnicas e, posteriormente, à falta de insumos e de mão de obra qualificada. Didaticamente, os métodos mais utilizados durante a pandemia podem ser divididos em dois grupos: os ensaios diagnósticos diretos, que identificam a infecção ao detectar o RNA ou antígeno do SARS-CoV-2, e os indiretos, que realizam a detecção dos anticorpos formados pelo ser humano contra o vírus, também conhecidos como exames sorológicos.

Os testes rápidos, conhecidos como LFIA ou POCT, são testes qualitativos que utilizam a técnica de imunocromatografia e podem ser realizados em pontos de atendimento como consultórios e farmácias. Existem dois tipos principais: os que detectam proteínas virais (TR COVID-19 Ag) e os que identificam anticorpos a partir de amostras de sangue periférico.

A detecção de anticorpos (IgM e IgG) ocorre em momentos diferentes da infecção, com a IgM sendo detectável a partir do quinto dia de sintomas e a IgG a partir do décimo dia. Resultados negativos devem ser interpretados com cautela, considerando a janela imunológica e outros exames clínicos. Os testes rápidos para detecção de antígenos (TR COVID-19 Ag) utilizam amostras de *swab* nasofaríngeo, identificando as proteínas S e N do SARS-CoV-2. A replicação viral precede o surgimento dos anticorpos, permitindo a identificação de antígenos nos estágios iniciais da infecção.

Esses testes são vantajosos por serem rápidos e fáceis de executar, sem necessidade de uma estrutura laboratorial complexa. A estabilidade do material utilizado nos testes rápidos é maior do que nos testes moleculares, e pequenas quantidades de sangue ou material biológico da nasofaringe são suficientes para a realização do exame.

Além do teste LFIA, a quantificação de anticorpos IgG, IgM e IgA pode ser realizada pelo método de imunoabsorção enzimática, conhecido como ELISA. Este método é crucial para diagnósticos virais, fornecendo informações qualitativas e quantitativas a partir de amostras de sangue, ao contrário dos métodos POCT, que

são apenas qualitativos. Similar ao ELISA, o CLIA detecta anticorpos através de uma reação enzimática quimioluminescente, também podendo ser semiquantificado por meio de detectores de luminescência. A CLIA é uma tecnologia de alto rendimento e baixa complexidade, útil para entender a resposta humoral na COVID-19.

Todos esses métodos (ELISA, CLIA e ECLIA) apresentam sensibilidade superior aos testes rápidos na detecção de anticorpos. No entanto, a precisão desses ensaios depende do momento da coleta, sendo recomendada a coleta a partir do décimo dia do início dos sintomas para IgM e IgA, e após o décimo quinto dia para IgG.

Embora o sequenciamento metagenômico tenha identificado inicialmente o SARS-CoV-2, essa abordagem não é prática para uso rotineiro devido ao seu custo e complexidade. A RT-qPCR rapidamente se destacou como o "padrão-ouro" para o diagnóstico do SARS-CoV-2 devido à sua alta sensibilidade e especificidade, sendo reconhecido pela OMS e CDC, além de permitir a detecção precoce e quantificação da carga viral, essencial para avaliar a progressão e a transmissibilidade da doença. No entanto, o método também apresenta desvantagens, como a possibilidade de resultados falso-negativos e a necessidade de infraestrutura laboratorial avançada e pessoal qualificado.

Alternativas à RT-qPCR incluem a RT-LAMP e o sistema CRISPR. A RT-LAMP, que amplifica material genético a uma única temperatura, é mais rápida e menos complexa, enquanto o CRISPR, inicialmente desenvolvido para edição genômica, mostrou-se promissor para a detecção de ácidos nucleicos devido à sua precisão e rapidez. Ambos os métodos têm potencial para superar algumas limitações da RT-qPCR e aumentar a capacidade de testagem diária, podendo ser implementados fora de laboratórios centrais.

Apesar de suas vantagens, os testes baseados em CRISPR ainda necessitam de estudos adicionais e desenvolvimento de infraestrutura adequada. No Brasil, iniciativas como a criação de um centro de produção de vetores virais para tecnologia CRISPR na UFMG são passos importantes para avançar nesse campo.

A RT-qPCR é um teste com uma metodologia complexa que exige ser realizado em um laboratório de biologia molecular dotado de equipamentos sofisticados e de alta tecnologia, com nível mínimo de biossegurança igual ou superior a dois, e insumos de alto custo. Por tratar-se de um exame de alta complexidade, com várias etapas, a RT-qPCR utiliza uma enorme gama de insumos, como reagentes, enzimas e microtubos, que podem variar de baixa tecnologia e valor, como os *swabs* para

coleta, até os *primers*, que são de alto valor e tecnologia, fundamentais para a sensibilidade e especificidade do exame. Entretanto, independentemente do valor ou complexidade de um reagente, sua falta pode inviabilizar a realização do teste. A maioria dos insumos para a realização da RT-qPCR é importada, principalmente dos Estados Unidos da América e China, o que contribui para dificultar a realização do teste molecular no Brasil. O método de RT-qPCR pode ser realizado de forma caseira (*in house*), onde o pesquisador precisa de mais processos para realizar as etapas do teste, ou comprado em conjuntos diagnósticos (*kits*) que facilitam e otimizam os processos.

A execução de testes de biologia molecular no Brasil é regulamentada e pode ser realizada por diversos profissionais da saúde e ciências biológicas, incluindo farmacêuticos-bioquímicos, biólogos, médicos especializados e biomédicos, conforme as normas dos respectivos conselhos profissionais. Devido à complexidade dos métodos de detecção, que exigem equipamentos de alta tecnologia e mão de obra altamente especializada, a capacitação desses profissionais geralmente não é adquirida durante a graduação, mas sim em programas de pós-graduação *lato e stricto sensu*, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país. Além dos profissionais de nível superior, os técnicos de laboratório, também conhecidos como tecnólogos de análises clínicas, desempenham um papel crucial na execução dos testes moleculares. Eles realizam tarefas técnicas precisas, como a micropipetagem, essencial para evitar erros que possam comprometer os resultados e desperdiçar insumos valiosos.

A gestão do conhecimento no setor da saúde tornou-se uma área de crescente importância, dada a necessidade de lidar com a vasta quantidade de informações que os profissionais da saúde precisam administrar. A adoção de práticas de gestão do conhecimento, inspiradas em técnicas comuns no mundo empresarial, pode oferecer soluções eficazes para este desafio. Estratégias como abordagens de treinamento, ferramentas de comunicação, métodos de mapeamento e comunidades de prática têm se mostrado fundamentais para o sucesso na gestão do conhecimento.

A pesquisa realizada nos Hospitais e Policlínicas da MB revelou informações importantes sobre a infraestrutura de detecção de material genético por meio de técnicas de biologia molecular. Apesar do esforço inicial de envolver todas as Forças Armadas, o tempo restrito levou a focar apenas na MB, representando 100% das OMH do SSM. A pesquisa também mostrou que apenas 13% das OMH possuem

infraestrutura para a detecção direta de material genético, especificamente o HNMD e o HNBra. O HNBra utiliza exclusivamente a técnica de RT-PCR, enquanto o HNMD, por meio do IPB, realiza RT-PCR, PCR e RT-qPCR. A técnica mais comum entre as OMH é a RT-PCR, utilizada por 50% das unidades. Outro fato evidenciado foi que o HNBra iniciou a utilização da técnica de biologia molecular após o início da pandemia, enquanto o HNMD iniciou quase quatro anos antes.

O estudo destacou também a limitação de infraestrutura em algumas unidades, como a PNMa, que possuía equipamentos doados pela AIEA, mas não tinha condições adequadas para sua utilização. A PNMa recorreu a uma parceria com o LACEN para a realização de diagnósticos moleculares.

A pesquisa demonstrou que a força de trabalho envolvida nos testes moleculares nas OMH é composta por um número pequeno de oficiais especializados em farmácia, biologia e biomedicina. No entanto, chama a atenção o fato de que a maioria dos oficiais envolvidos diretamente na execução dos testes é composta por oficiais temporários. Também foi identificado que não há servidores civis envolvidos nas atividades de biologia molecular.

O estudo demonstrou ainda que o HNMD, por meio de seu instituto de pesquisas, é a única OMH da MB com capacidade para realizar sequenciamento genético, tendo iniciado essa atividade em outubro de 2021 com a aquisição de um sequenciador de baixo custo.

No Brasil, instituições de pesquisa de destaque como a FIOCRUZ, o Instituto Butantan e a EMBRAPA desempenham papéis cruciais na área de biologia molecular, com laboratórios de ponta, incluindo níveis de biossegurança NB3, que avançam no conhecimento científico e produzem imunobiológicos essenciais. Essas instituições, junto com importantes universidades como a UNICAMP, UFRJ e USP, fortalecem a infraestrutura nacional de pesquisa, contribuindo significativamente para a genômica e a detecção de patógenos como o SARS-CoV-2.

A rede de laboratórios de análises clínicas privados no Brasil, especialmente nas grandes capitais, é bem equipada e qualificada. Esses laboratórios possuem infraestrutura adequada para realizar a detecção molecular do SARS-CoV-2 por meio da técnica de RT-PCR e operam em grande escala e de forma automatizada.

Contudo, a pandemia expôs a vulnerabilidade desses laboratórios à disponibilidade de insumos, que eram escassos e majoritariamente importados. No início da pandemia, a falta de insumos específicos para o novo coronavírus e a alta

demanda, exacerbada pela variante Ômicron, resultaram em preços elevados e sobrecarga dos laboratórios privados.

Os laboratórios públicos do Brasil, incluindo os LACEN e os NIC, desempenharam um papel crucial na resposta à pandemia de COVID-19. A partir de fevereiro de 2020, os diagnósticos laboratoriais por técnicas de biologia molecular começaram de forma limitada nos NIC e rapidamente se expandiram em março de 2020 com o treinamento e abastecimento dos LACEN nos estados. Essa expansão foi essencial para aumentar a capacidade de detecção do SARS-CoV-2 e melhorar a resposta à pandemia em nível estadual. Todavia, não houve prioridade para o HNMD por parte dessas instituições, sendo disponibilizados pouquíssimos testes por semana e com a liberação dos laudos em prazo elevado.

No entanto, a alta demanda por testes e a rápida propagação do vírus, especialmente durante os picos de infecção, sobrecarregaram a rede pública de laboratórios. Apesar das ações do Ministério da Saúde para adquirir e distribuir insumos, houve atrasos na liberação dos laudos e no tempo de realização dos exames, similar aos desafios enfrentados pela rede laboratorial privada.

O IBEx passou por uma modernização laboratorial significativa e investiu na qualificação de seus profissionais, o que permitiu a capacidade diagnóstica de detecção de mutações e doenças através de moléculas de DNA e RNA. Além disso, oferece um Mestrado em Defesa Biológica, com linhas de pesquisa em Microbiologia, Biotecnologia e Genética Molecular. Esse instituto teve um papel importante na resposta à crise sanitária, realizando diagnósticos moleculares utilizando a RT-PCR no âmbito do Exército Brasileiro.

O IBEx é a única unidade de saúde das Forças Armadas que tem experiência com as técnicas de sequenciamento genético e expertise em Genética Forense.

Desde 2018, a Divisão de Pesquisa do HFA realiza pesquisas sobre câncer de mama utilizando a técnica de PCR. Durante a pandemia de COVID-19, a cooperação técnico-científica com a UnB permitiu a adoção da técnica de RT-PCR, capacitando o HFA a realizar detecção molecular do SARS-CoV-2 de maneira eficaz.

O IPB, integrado ao complexo hospitalar do HNMD, desempenha um papel crucial na pesquisa na área de saúde da MB, alinhado às diretrizes de Ciência, Tecnologia e Inovação da MB. Fundado pelo Almirante Heraldo Maciel como Instituto Naval de Biologia, o IPB tem uma longa história de contribuições significativas, especialmente em doenças infecciosas e parasitárias desde a década de 1930.

O laboratório de biologia molecular, criado em 2016 com o apoio da FAPERJ e do HNMD, expandiu suas pesquisas e colaborações, notavelmente com o INMETRO.

Durante a pandemia de COVID-19, o IPB rapidamente adaptou suas instalações para realizar diagnósticos moleculares do SARS-CoV-2, enfrentando desafios como a escassez de equipamentos e insumos no mercado. A reengenharia do pessoal e as parcerias com universidades, como a UFRJ, foram essenciais para superar essas dificuldades.

O início dos primeiros diagnósticos moleculares da COVID-19 pelo IPB, na primeira quinzena de março de 2020, apenas 16 dias após o primeiro caso registrado no Brasil, demonstrou a importância da existência de uma infraestrutura, mesmo que acanhada, na área de biologia molecular. Essa infraestrutura foi crucial para o enfrentamento da pandemia e para a diminuição da morbidade e mortalidade da doença no HNMD. Em comparação, outra OMH que não realizava testes moleculares antes da pandemia, o HNBra, começou no mês de setembro daquele ano, quase seis meses após o HNMD.

O sequenciamento genômico viral demonstrou sua importância durante a pandemia da COVID-19, em contraste com a epidemia de SARS de 2002-2003. A rápida identificação e compartilhamento das sequências genômicas do SARS-CoV-2 foram cruciais para a detecção, caracterização e desenvolvimento de diagnósticos moleculares e vacinas de mRNA. Além disso, o sequenciamento genômico facilita a identificação de patógenos, compreensão da biologia viral e aprimoramento de diagnósticos e terapias antivirais. Na epidemiologia, a análise filogenética do sequenciamento genético ajuda a investigar as rotas de transmissão do vírus, distinguindo infecções locais de importadas e orientando estratégias de mitigação da propagação.

Apesar das proibições internacionais, como a Convenção sobre Armas Biológicas e Toxinas de 1972, a ameaça do bioterrorismo persiste. Agentes biológicos podem ser utilizados de forma que imitem surtos naturais, dificultando a detecção e a resposta inicial.

A classificação de agentes biológicos pelo CDC em três categorias, com base em critérios como virulência e potencial de disseminação, sublinha a necessidade de vigilância constante e preparação robusta para responder a ataques bioterroristas.

O bioterrorismo moderno pode ainda estar associado a pesquisas avançadas em laboratórios de alta segurança, como as alegações sobre a origem do SARS-CoV-

2 e o Instituto de Virologia de Wuhan. Essas teorias, embora controversas, destacam a necessidade de transparência e rigor na condução de pesquisas biológicas de alto risco.

A capacidade de resposta a ameaças biológicas, sejam naturais ou intencionais, depende da integração de tecnologias avançadas, como o sequenciamento genômico, e de uma rede global de colaboração e compartilhamento de informações. A preparação contínua, a vigilância epidemiológica eficaz e a rápida adaptação às novas ameaças são essenciais para proteger a saúde pública e garantir a segurança global.

Desta forma, apresento como sugestões para o aprimoramento do diagnóstico laboratorial das viroses emergentes e reemergentes pelo SSM as seguintes propostas: Manter e incrementar linhas de pesquisa na área de biologia molecular no IPB, utilizando a mão de obra disponível egressa das universidades e dos oficiais temporários que terminaram o seu tempo de serviço ativo, preferencialmente com financiamento de órgãos de fomento e da Fundação AMARCÍLIO. Por conseguinte, manter-se-á o capital intelectual e teremos mão de obra de reserva no caso de uma nova pandemia; Ampliar os estudos da técnica de sequenciamento genômico para tornar o IPB capaz de identificar patógenos, permitindo a criação de *primers* e sondas e, deste modo, tornando-se independente para a detecção molecular; Estabelecer cooperação técnico-científica com o IBEx na área de sequenciamento genético, considerando que essa instituição possui o maior domínio na área de genética das Forças Armadas; Manter e ampliar a parceria com o Laboratório de Virologia Molecular do Instituto de Biologia da UFRJ, que foi o maior parceiro do IPB durante o período pandêmico; Implementar um acordo de cooperação técnico-científica entre o laboratório de referência de sequenciamento da FIOCRUZ e o IPB/HNMD; Instituir um acordo de cooperação técnico-científica entre o HNBe e o Laboratório de Vírus Respiratórios do Instituto Evandro Chagas, expandindo assim o conhecimento na área de biologia molecular para a região Norte, atualmente restrito na MB ao Sudeste e Centro-Oeste; Firmar acordos de cooperação com os LACEN, com cláusulas que assegurem prioridade para a MB na realização de testes moleculares; e Buscar parceria com o Orion, o único laboratório NB4 da América do Sul.

Considerando que a experiência obtida no IPB com a detecção molecular do SARS-CoV-2 durante a pandemia da COVID-19 pode ser utilizada em outros setores da MB, apresento a seguinte proposta: Incrementar as parcerias com as universidades

no sentido de identificar profissionais egressos dos programas de pós-graduação *stricto sensu* em áreas de interesse da MB, criando um banco de talentos em áreas críticas que podem ser utilizados pela MB em caso de crise.

Finalmente, este estudo atendeu ao objetivo principal de analisar o diagnóstico laboratorial das viroses emergentes, com ênfase na detecção molecular do SARS-CoV-2 no Hospital Naval Marcílio Dias durante a pandemia da COVID-19.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELSATTA, Abdallah S. et al. The Role of Molecular Modeling and Bioinformatics in Treating a Pandemic Disease: The Case of COVID-19. **The Open COVID**, v. 1, p. 216-234, agosto 2021.

ABRAMED. Nota Técnica sobre Desabastecimento de Insumos para Testes de Covid-19. **Associação Brasileira de Medicina Diagnóstica**, 2022. Disponível em: <<https://abramed.org.br/3006/nota-tecnica-sobre-desabastecimento-de-insumos-para-testes-de-covid-19/>>. Acesso em: 26 julho 2024.

ALAVI, Maryam ; LEIDNER, Dorothy E. Review: Knowledge management and knowledge management systems: conceptual foundations and research issues. **MIS Quarterly**, 25, n. 1, março 2001. 107-138.

ALONSO, Wladimir J. et al. A alta mortalidade da pandemia espanhola na divisão naval em operações de guerra em 1918. **Navigator**, maio 2013. 11-21.

ANVISA. Resolução – RDC no 50, de 21 de fevereiro de 2002. **ANVISA**, Brasília, 21 fevereiro 2002. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC_50_2002_COMP.pdf/8b6dc86e-5fe7-41ab-9d71-cda206a2401a>. Acesso em: 10 maio 2024.

BARRAL-NETTO, Manoel et al. **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19**: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais.

BRITO, Sávio Breno P. et al. Pandemia da COVID-19: o maior desafio do século XXI. **Vigilância sanitária em debate em debate**, 28 abril 2020. 54-63.

BUSTIN, Stephen A.; NOLAN, Tania. RT-qPCR Testing of SARS-CoV-2: A Primer. **International Journal of Molecular Sciences**, 24 abril 2020. 1-9.

CAAML. **Revista Passadiço**, Niterói, n. 49, 2020. 42-47.

CARDOSO, Telma A. D. O.; VIEIRA, Duarte N. Bacillus anthracis como ameaça terrorista. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, 40, n. 107, outubro/dezembro 2015. 1138-1148.

CASTEJON, Márcia J. et al. Avaliação do desempenho de teste rápido e de dois imunoenaios automatizados para Sars-CoV-2. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, n. 57, 20 julho 2021. 1-10.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Bioterrorism**, 2006. Disponível em: <https://emergency.cdc.gov/bioterrorism/pdf/bioterrorism_overview.pdf>. Acesso em: 31 julho 2024.

CHIAVENATO, Idalberto. **Gestão de pessoas O novo papel dos recursos humanos nas organizações**.

EBC. Brasil terá primeiro laboratório de máxima contenção biológica do mundo conectado a uma fonte de luz síncrotron. **Agência Gov**, 2023. Disponível em: <<https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202308/brasil-tera-primeiro-laboratorio-de-maxima-contencao-biologica-do-mundo-conectado-a-uma-fonte-de-luz-sincrotron>>. Acesso em: 15 Julho 2024.

FONGARO, Gislaine. The presence of SARS-CoV-2 RNA in human sewage in Santa Catarina, Brazil, November 2019. **Science of the Total Environment**, 15 jul. 2021.

GANBAATAR, Uyanga Ganbaatar; CHANGCHUN, Liu. CRISPR-Based COVID-19 Testing: Toward Next-Generation Point-of- Care Diagnostics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 11, 30 abril 2021. 1-11.

GOSTIN, Lawrence O.; NUZZO, Jennifer B. Twenty Years After the Anthrax Terrorist Attacks of 2001 Lessons Learned and Unlearned for the COVID-19 Response. **JAMA**, v. 326, n. 20, p. 2009-2010, novembro 2021.

GOYAL, Vinod K.; SHARMA, Chandrika. The novel coronavirus 2019: A naturally occurring disaster or a biological weapon against humanity: A critical review of tracing the origin of novel coronavirus 2019. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 2, p. 1-5, fevereiro 2020. ISSN E-ISSN: 2320-7078.

IBEX. Instituto de Biologia do Exército. **Instituto de Biologia do Exército**, 2024. Disponível em: <<https://www.ibex.eb.mil.br/quem-somos4.html>>. Acesso em: 20 julho 2024.

IBEX. Instituto de Biologia do Exército. **Mestrado**, 10 Julho 2024. Disponível em: <<https://www.ibex.eb.mil.br/mestrado.html>>.

IOC. Instituto Oswaldo Cruz. **Laboratório de Genômica Aplicada e Bioinovações**, 2024. Disponível em: <<https://www.ioc.fiocruz.br/lagabi>>. Acesso em: 1 Agosto 2024.

IQBAL, Naiyar; KUMAR, Pradeep. From Data Science to Bioscience: Emerging era of bioinformatics applications, tools and challenges. **Procedia Computer Science**, n. 218, 2023. 1516–1528.

JÚNIOR, Márcio M. D. O. et al. Comparação de acurácia entre testes sorológicos e moleculares para detecção da infecção por SARS-CoV-2: revisão sistemática. **Research, Society and Development**, São Paulo, 12, n. 6, 12 junho 2023. 1-8.

KARAMITRI, Ioanna ; ALIAS, Michael A.; BELLALI, Thalia. Knowledge management practices in healthcare settings: a systematic review. **HE INTERNATIONAL JOURNAL OF HEALTH PLANNING AND MANAGEMENT**, 2015. 1-15.

KOTHARI, Anita et al. Lessons from the business sector for successful knowledge management in health care: A systematic review. **BMC Health Services Research**, 2011. 1-11.

LACERDA, Dayse. ICB abrigará centro de produção de vetores virais inédito no Brasil. **UFMG**, 2022. Disponível em: <<https://ufmg.br/comunicacao/noticias/icb-vai-abrigar-centro-de-producao-de-vetores-virais-inedito-no-brasil#:~:text=O%20Instituto%20de%20Ciências%20Biológicas,utilizada%20do%20que%20técnicas%20convencionais.>>. Acesso em: 10 maio 2024.

LAKSHMI, CH. COVID-19 - Bioterrorism. **International Journal of Law Management & Humanities**, v. 3, n. 2, p. 104-112, 2020. ISSN ISSN 2581-5369.

LIU, Zhixin et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 6, p. 595-601, fevereiro 2020.

LUNA, Expedito J. A. A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, 5, n. 3, 30 julho 2002. 229-243.

MA, Lifei et al. Comprehensive analyses of bioinformatics applications in the fight against COVID-19 pandemic. **Computational Biology and Chemistry**, 95, dezembro 2021. 1-11.

MARTIN, BRADLEY; BRAHMBHATT, TRUPTI. Readiness Implications of Coronavirus Infections on U.S. Navy Ships. **RAND Corporation**, 2021. 1-32.

MARTINELLO, Flávia. Acurácia diagnóstica dos métodos sorológicos de detecção da COVID-19. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, 29 abril 2021. 1-7.

MCTI. Laboratório Nacional de Computação Científica - LNCC. **Laboratório de Bioinformática - LABINFO**, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/lncc/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/linhas-de-pesquisa/bioinformatica-e-biologia-computacional/laboratorio-de-bioinformatica-labinfo>>. Acesso em: 11 junho 2024.

MENEZES, Maria E.; LIMA, Lenilza M.; MARTINELLO, Flavia. Diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 52, n. 2, 18 set. 2020. 122-130.

MICHALSKI, Aleksander et al. Lessons learned from 2001–2021 – from the bioterrorism to the pandemic era. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, 17 fevereiro 2022. 1-11.

MINISTÉRIO DA DEFESA. Hospital das Forças Armadas - HFA, 21 maio 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/hfa/pt-br/noticias/materias-2021/hospital-das-forcas-armadas-em-parceria-com-a-universidade-de-goias-cria-laboratorio-para-vigilancia-de-arbovirozes-1>>. Acesso em: 3 julho 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Especial 20**. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS). Brasília, p. 1-48. 2020. (ISSN 9352-7864).

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sobre o Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. **Ministério da Saúde**, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/sislab/sobre%20o%20sislab>>. Acesso em: 7 maio 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasil chega à marca de 700 mil mortes por Covid-19. **Ministério da Saúde**, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/marco/brasil-chega-a-marca-de-700-mil-mortes-por-covid-19>>. Acesso em: 7 maio 2024.

MORENO, Jose M. et al. Predictive Models for Forecasting Public Health Scenarios: Practical Experiences Applied during the First Wave of the COVID-19 Pandemic. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, p. 1-16, maio 2022.

NOE, Raymond A. **Employee Training and Development**. 5. ed.

NOGUEIRA, Joseli M. D. R. Diagnóstico laboratorial da COVID-19 no Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 52, n. 2, 27 ago. 2020. 117-121.

NONAKA, Ikujiro; TAKEUCHI, Hirotaka. **Criação de conhecimento na empresa**: como as empresas japonesas geram a dinâmica da inovação.

OLIVEIRA, Marcone A. L. et al. Testes diagnósticos para o SARS-COV-2: Uma reflexão crítica. **Química Nova**, São Paulo, 45, n. 6, 19 abril 2022. 760-766.

OLIVEIRA, Wanderson K. D. et al. Como o Brasil pode deter a COVID-19. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 24 abr. 2020. 1-8.

OPAS. RESVIGEN (Rede Regional de Vigilância Genômica de Vírus Respiratórios). **OPAS**, 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/node/4951/resvigen-rede-regional-vigilancia-genomica-virus-respiratorios>>. Acesso em: 24 julho 2024.

OPAS. **Sequenciamento genômico do SARS-CoV-2. Guia de implementação para máximo impacto na saúde pública**. Organização Pan-Americana da Saúde. [S.l.]. 2021. (ISBN: 978-92-75-72389-0).

OPAS. OMS declara fim da Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional referente à COVID-19. **OPAS**, 2023. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2023-oms-declara-fim-da-emergencia-saude-publica-importancia-internacional-referente>>. Acesso em: 7 maio 2024.

OPAS. Histórico da pandemia de COVID-19. **OPAS**, 2024. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>>. Acesso em: 7 maio 2024.

PALAZ, Fahreddin et al. CRISPR-based tools: Alternative methods for the diagnosis of COVID-19. **Clinical Biochemistry**, n. 89, 2021. 1-13.

PARASKEVIS, D. et al. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) T rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. **Infection, Genetics and Evolution**, 79, abril 2020. 104212.

PEREIRA , Michelly et al. Desafios e conquistas da implementação do diagnóstico molecular da Covid-19 na Universidade Federal de Pernambuco. **Estudos Universitários: revista de cultura**, Recife, 31 julho/dezembro 2021. 379-400.

PEREIRA, Felicidade M. et al. Experiência do Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia no enfrentamento da pandemia da COVID-19. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, 45, jan 2021. 187-203.

RAHIMI, Hossein et al. CRISPR Systems for COVID-19 Diagnosis. **ACS Sensors**, n. 6, 27 janeiro 2021. 1430–1445.

RAO, G.Gopal; AGARWAL, Ashwini ; BATURA , Deepak. Testing times in Coronavirus disease (COVID-19): A tale of two nations. **Medical journal armed forces india**, 14 junho 2020. 243-249.

SAINI, Prativindhya; JAIN, Renu; JAIN, Nisha. Knowledge Management. **International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology**, v. 11, n. 1, p. 1785-1788, janeiro 2023. ISSN ISSN: 2321-9653.

SALVADOR, JOCELITO A. Criar conhecimento na empresa: verdade ou utopia?. **Conducere**, 19 julho 1998. Disponível em: <<https://conducere.com.br/criar-conhecimento-na-empresa/>>.

SHI, Zheng-Li et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**, março 2021. 141-154.

SIETTOS, Constantinos I.; RUSSO, Lucia. Mathematical modeling of infectious disease dynamics. **Virulence**, 15 maio 2013. 295-306.

SILVA, Juliane C. et al. **Pandemia da Covid-19: uma visão multidisciplinar**.

SILVA, Luiz J.; ANGERAMI, Rodrigo N. **Viroses emergentes no Brasil.**

SOUZA, Rodrigo D. Covid-19: Sobrecarregados, laboratórios particulares do Rio suspendem agendamentos para testes RT-PCR. **O Globo**, 2022. Disponível em: <<https://oglobo.globo.com/rio/covid-19-sobrecarregados-laboratorios-particulares-do-rio-suspendem-agendamentos-para-testes-rt-pcr-1-25350043>>. Acesso em: 24 julho 2024.

UZUNIAN, Armênio. Coronavírus SARS-CoV-2 e Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, 56, 9 setembro 2020. 1-4.

VRANJAC, Alexandre. Influenza aviária e casos em humanos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, n. 40, 2006. 187-190.

WANG, Dawei. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA**, 7 fevereiro 2020. 1061-1069.

WHO. Biological weapons. **WHO**, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/biological-weapons/#tab=tab_1>. Acesso em: 31 julho 2024.

WHO. World Health Organization. **Disease Outbreak News**, 05 junho 2024. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON520>>. Acesso em: 07 junho 2024.