

Atualização dos critérios para diagnóstico laboratorial da Febre Maculosa no IAL (última atualização = 08/12/23)

Objetivo: Esclarecer sobre a febre maculosa e o diagnóstico laboratorial, definir critérios para realização dos exames laboratoriais devido à limitação de insumos.

CONTEXTUALIZAÇÃO

A febre maculosa é uma doença de notificação compulsória imediata, causada por riquetsias do grupo da febre maculosa, que são transmitidas ao homem acidentalmente através da picada de algumas espécies de carrapatos em regiões endêmicas específicas. O carrapato mais encontrado na região urbana, aquele que sobe pelas paredes e parasita principalmente os cães não transmite a febre maculosa.

A *Rickettsia rickettsii* é a espécie envolvida nos casos graves e fatais, e a responsável por manter o agravo entre as doenças infecciosas mais letais reportadas atualmente. Até o momento não foram confirmados casos leves e de resolução espontânea sem tratamento.

No Estado de São Paulo, há duas espécies de carrapatos incriminadas na maioria dos casos de febre maculosa pela *R. rickettsii* em humanos: *Amblyomma aureolatum*, responsável pela transmissão em regiões metropolitanas da Grande São Paulo, em áreas de Mata Atlântica degradada, onde os hospedeiros envolvidos são animais domésticos, cães e gatos; e o *Amblyomma sculptum*, responsável pela transmissão em regiões de Cerrado, próximos às coleções hídricas e com a presença de capivaras, cavalos e gambás.

Nas áreas endêmicas de *A. sculptum*, os estudos mostram que menos de 1% dos carrapatos são infectados pela *R. rickettsii*. Nessas áreas, a incidência dos casos humanos de Febre Maculosa está relacionada ao ciclo biológico do vetor, sendo de julho a outubro os meses com maior ocorrência de casos positivos.

Até o momento, não há evidências de outras formas de transmissão além da picada do carrapato infectado com *R. rickettsii*, sendo as ninfas e os adultos as formas mais comumente incriminadas.

O período de incubação na febre maculosa pode variar entre 2 e 14 dias. Os sintomas iniciam de forma súbita com a presença de febre, mialgia e cefaleia e evolução para piora do quadro na ausência do tratamento com antibiótico específico. O tratamento específico é indicado apenas para casos sintomáticos (e não como profilaxia depois de uma

exposição ao carrapato) e deve ser iniciado assim que a suspeita clínica for considerada para o caso.

A letalidade está relacionada à ausência ou início tardio da antibioticoterapia específica, e varia de 30-60% dos casos.

Em junho 2023 casos fatais que ocorreram no município de Campinas causaram importante impacto na sensibilização dos serviços de saúde e aumento explosivo de exames com conseqüente congestionamento e represamento de exames para febre maculosa.

Fig 1. Número de exames para febre maculosa recebidos nos anos de 2021, 2022 e 2023* até outubro.

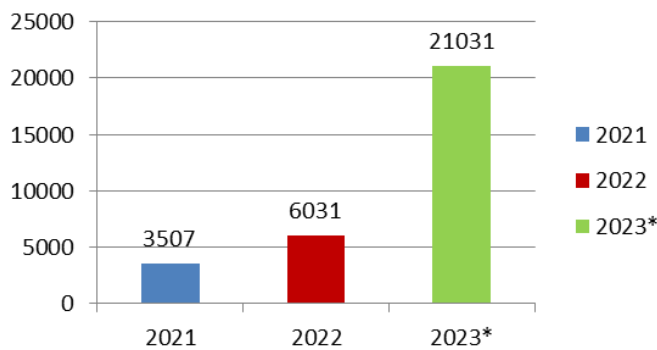
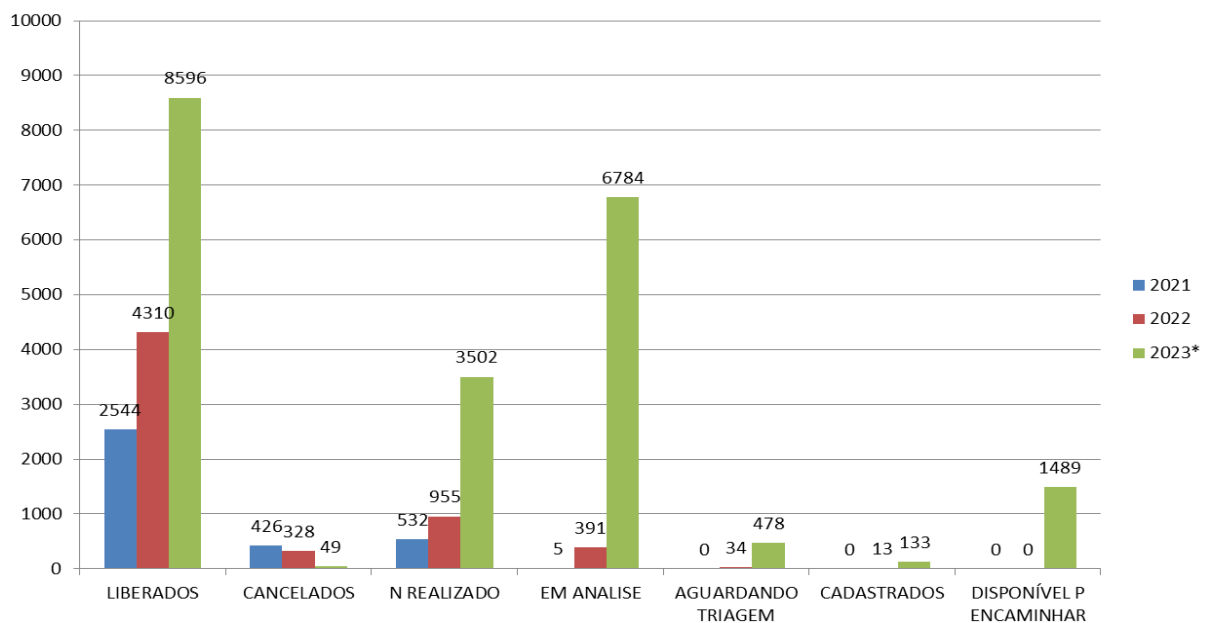


Fig 2. Número de exames para febre maculosa de acordo com o status no GAL, nos anos de 2021, 2022 e 2023* até outubro.



O percentual de exames com resultados reagentes para febre maculosa em 2023, até o mês de outubro foi de **1,49 %**. **Em relação às notificações, o percentual está ainda mais baixo, de 0,9%. Ou seja, de todos os casos notificados apenas 0,9% estão sendo confirmados.**

Diagnóstico Laboratorial da Febre Maculosa no IAL

Para o diagnóstico da febre maculosa, o IAL disponibiliza os exames de PCR em tempo real, apenas para óbitos ou graves-UTI, e sorologia para pesquisa de IgG em amostras pareadas (aguda e convalescência) pela técnica de imunofluorescência indireta. Quando o caso evolui para óbito, amostras coletadas na necropsia conservadas em formol 10% podem ser enviadas para análise anátomo-patológica e imuno-histoquímicas para pesquisa de febre maculosa no IAL.

A PCR apresenta baixa sensibilidade em amostras de sangue, pois as riquetsias são intracelulares, permanecendo indetectáveis em amostras de sangue periférico na maioria dos casos. A PCR para febre maculosa somente se aplica aos casos de vasculite aguda, compatível com casos fatais ou graves internados que necessitem de cuidados de terapia intensiva (UTI). A PCR em tempo real é uma ferramenta diagnóstica que deve ser utilizada para os casos em que o risco da evolução para o óbito poderá impossibilitar a coleta da segunda amostra para sorologia.

A sorologia tem como objetivo identificar a elevação de títulos de anticorpos específicos para febre maculosa após o aparecimento dos primeiros sintomas para os casos que atendem os critérios clínicos/epidemiológicos.

A sorologia para febre maculosa não é recomendada para casos assintomáticos. As amostras colhidas na fase aguda (até 5 a 7 dias após os primeiros sintomas) não apresentam níveis de anticorpos específicos detectáveis e serão processadas pareadas com a segunda coleta (ideal de 15 a 30 dias após a 1ª coleta). Após a identificação dos primeiros sintomas, é importante que a primeira amostra seja colhida o quanto antes para otimizar os insumos laboratoriais e facilitar a interpretação do resultado. A primeira amostra colhida tardiamente pode dificultar a identificação da soroconversão. A segunda amostra não deve ser colhida antes de 15 dias após a coleta da primeira, para evitar resultados falsos negativos ou dificultar a identificação da soroconversão.

Os resultados da sorologia não são oportunos para o manejo do paciente, mas são úteis para planejamento das ações da vigilância no monitoramento e controle do agravo.

A detecção de elevação de 4x (2 títulos) nos níveis de IgG da primeira para a segunda amostra confirmam o diagnóstico sorológico para febre maculosa.

Uma porcentagem da população pode apresentar anticorpos persistentes para riquetsias do Grupo Febre Maculosa, especialmente de regiões endêmicas conhecidas. Esta situação acontece possivelmente devido ao contato prévio com alguma riquetsia do grupo da febre maculosa, não necessariamente patogênica como a *R. rickettsii*. Nestes casos a primeira e a segunda amostra são reagentes e apresentam o mesmo título de IgG para febre maculosa. Uma vez que as amostras sejam colhidas oportunamente, não há necessidade de coleta de terceira amostra, pois não há elevação de títulos de IgG relacionados aos primeiros sintomas investigados.

Amostras colhidas oportunamente que resultarem em elevação de apenas 1 título no pareamento de IgG, especialmente se a antibioticoterapia específica foi rapidamente iniciada, podem necessitar de uma terceira coleta para esclarecer o caso. As terceiras coletas precisam ser comunicadas e autorizadas previamente pelo laboratório.

Os protocolos utilizados na rotina de PCR em tempo real e sorologia para febre maculosa são validados no laboratório, tendo como referência as orientações do CDC-EUA e/ou literatura científica de grupos de pesquisadores riquetsiologistas reconhecidos internacionalmente. Neste contexto, os insumos são adquiridos separadamente e os protocolos montados e validados em cada rotina, de acordo com os parâmetros de desempenho previamente definidos.

A sorologia para FM envolve produção de antígenos a partir de cultura celular de *R. rickettsii*, um processo laborioso, com alto risco biológico e de baixa produtividade. A reação de imunofluorescência é manual em todas as etapas, incluindo a leitura em microscópio de fluorescência, que pode ser realizada apenas por especialista treinado para a rotina de febre maculosa.

Atualmente a rotina de sorologia para febre maculosa está acima da capacidade analítica o que tem causado, além do atraso no resultado, transtornos para armazenamento, localização dos pareamentos, sobrecarga da equipe técnica e esgotamento de insumos.

Neste contexto, estas orientações visam instruir os serviços de saúde e vigilância sobre os critérios que serão adotados pelo laboratório a partir da divulgação deste documento, com a finalidade de otimizar os insumos e dar fluidez na rotina diagnóstica para febre maculosa, com foco na febre maculosa causada pela *R. rickettsii*, que é responsável pelos casos graves e óbitos no ESP.

Critérios para envio de PCR em tempo real para Febre Maculosa

- ✓ amostra de sangue ou soro de caso com evolução fatal ou grave-UTI com suspeita de clínica e epidemiológica de febre maculosa.
- ✓ as informações: óbito ou grave-UTI precisam constar na solicitação do exame, bem como na ficha do GAL, no campo OBS.

- ✓ As datas de início de sintomas e coleta precisam constar no pedido médico, bem como a data do início da antibioticoterapia específica. Amostra para PCR deve ser colhida até 24 horas após o início da antibioticoterapia específica, após esse período a carga bacteriana pode tornar-se indetectável.
- ✓ Os casos que evoluírem para o óbito após o envio da amostra para o IAL devem ser informados por email: doencasrespiratorias@ial.sp.gov.br e respostas.rapidas@ial.sp.gov.br

Critérios para envio de fragmentos de órgãos (necropsia) para diagnóstico anatomo-patológico de Febre Maculosa

- ✓ Anatomo-patológico e imuno-histoquímica: a pesquisa de antígenos de *R. rickettsii* é realizada em fragmentos de órgãos (cérebro, coração, pulmão, fígado, rim e baço), de aproximadamente 1-2 cm³ cada, conservados em formalina a 10% (preferencialmente em até 72 horas), em temperatura ambiente; ou, caso estejam disponíveis, em amostras já emblocadas em parafina.
- ✓ As amostras (em formalina ou emblocados em parafina) devem estar acompanhadas de relatório de necropsia (mesmo que parcial) e/ou informações sobre evolução clínica.
- ✓ Em caso de dúvidas: (11) 3068-2875 / 3068-2872 ou anatpatol@ial.sp.gov.br

Critérios para envio de sorologia para Febre Maculosa

Devido à limitação de insumos o diagnóstico laboratorial da febre maculosa será focado nos casos com suspeita de *R. rickettsii*.

- ✓ Epidemiológico: picada de carrapato, em região endêmica conhecida.
- ✓ Clínicos: febre (obrigatório), mialgia, cefaleia, evolução aguda sem melhora, introdução da antibioticoterapia específica.
- ✓ Prazo máximo para coleta da segunda amostra até 60 dias após a coleta da primeira.

As informações clínicas e epidemiológicas deverão constar no pedido do exame. Podendo constar, brevemente, no campo OBS. do registro no GAL ou ser uma cópia da ficha epidemiológica, apenas onde constam as informações necessárias, enviada junto com a requisição do GAL.

Não serão considerados dentro dos critérios prioritários ausência de:

- ✓ picada de carrapato, região endêmica, febre, preenchimento da data dos primeiros sintomas, sem início do tratamento específico.

Casos que tiveram a suspeita de FM e fizeram a coleta de primeira amostra oportuna, mas que evoluíram para síndrome gripal, gastroenterite ou outro quadro clínico não compatível com FM devem ser descartados sem a coleta da segunda amostra.

Para os casos que não atendam os critérios aqui definidos, os exames de sorologia para febre maculosa precisarão ser autorizados pelo laboratório (NDR-IAL-Central) que avaliará a disponibilidade de insumos e fornecerá uma senha de autorização para o exame. O contato com o laboratório poderá ser por email: doencasrespiratorias@ial.sp.gov.br com cópia para respostas.rapidas@ial.sp.gov.br

Orientações sobre amostras enviadas para o diagnóstico da febre maculosa

- ✓ apenas 1 tubo de sangue (3-5mL), sem anticoagulante, deve ser colhido em cada data de coleta. Os tubos devem ser centrifugados antes do envio ao laboratório.
- ✓ Os tubos devem estar identificados com os nomes completos e data de coleta. Amostras que não estiverem bem identificadas serão descartadas.
- ✓ Atenção para o cadastro da data da coleta no GAL. Amostras com a mesma data de coleta serão descartadas, mesmo que tenham números de requisições diferentes no GAL.
- ✓ Ao enviar primeira e segunda amostras no mesmo lote, as papeletas e as amostras devem estar juntas, devidamente identificadas, em sequência na estante e na lista de remessa.

Os critérios e orientações definidas neste documento deverão ser implementados a partir de 15 de novembro de 2023. Os exames que não atenderem aos critérios aqui definidos serão descartados.

Dúvidas e esclarecimentos:

Dra. Fabiana CP Santos (fabiana.santos@ial.sp.gov.br , NDR/CV/IAL, 11 3068-2906) e Adriano Abbud (respostas.rapidas@ial.sp.gov.br , CRR/IAL, 11 3068-2850)

São Paulo, 08 dezembro 2023.