

---

*Resumo*

## Aplicações da PCR em tempo real no diagnóstico laboratorial da Febre Maculosa Brasileira

Fabiana Cristina Pereira dos Santos; Marcos Vinícius da Silva (orientador)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2014

---

### RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB), causada pela *Rickettsia rickettsii*, é a principal doença transmitida por carrapato com impacto em saúde pública no Brasil. Os primeiros sintomas são inespecíficos, porém a doença pode evoluir rapidamente para quadro de Síndrome Febril Hemorrágica Aguda (SFHA) com a ocorrência de óbito em poucos dias. O objetivo deste estudo foi verificar as aplicações da PCR em tempo real na rotina laboratorial para o diagnóstico etiológico da FMB, em amostras biológicas encaminhadas ao Laboratório de Riquetsias do Instituto Adolfo Lutz. Foram testados dois protocolos de PCR em tempo real: um para detecção do gênero *Rickettsia* spp (*gltA-TaqMan*®) com detecção por sonda TaqMan® e outro para riquetsias do Grupo Febre Maculosa (*OmpA-SYBR*) com detecção por SYBRGreen. O protocolo de PCR em tempo real para RNaseP foi utilizado como controle interno endógeno. A amostragem foi constituída de sangue, soro, coágulo e biópsia de pele de lesão de casos fatais e não fatais com suspeita clínica de FMB. Os resultados mostraram que o protocolo *OmpA-SYBR* sofre interferência da matriz biológica e os melhores resultados com relação à sensibilidade foram obtidos quando utilizado em amostras de soro. Os protocolos de PCR em tempo real *gltA-TaqMan*® e *OmpA-SYBR* apresentaram concordância de resultados acima de 90%. O protocolo *gltA-TaqMan*® mostrou-se mais sensível do que o protocolo *OmpA-SYBR*, porém com menor especificidade, particularmente para amostras com CT>36. O melhor desempenho da PCR em tempo real para FMB, foi obtido quando a FMPCR, composta dos três protocolos: *gltA-TaqMan*®, *OmpA-SYBR* e RNaseP humana, foi utilizada em amostras de soro para detecção do agente etiológico da FMB nos casos fatais. A PCR em tempo real para FMB apresentou baixa sensibilidade para detectar casos não fatais, confirmados pela sorologia para FMB, com positividade de 21%. Os resultados deste estudo indicam que a FMPCR apresenta sensibilidade e especificidade que permitem utilizá-la como ferramenta laboratorial no diagnóstico da FMB para elucidação de casos fatais, com suspeita da doença.

**PALAVRAS-CHAVE:** Febre maculosa das montanhas rochosas/ diagnóstico. *Rickettsia rickettsii*. Reação em cadeia da polimerase em tempo real.

## *Applications of real-time PCR in laboratory diagnosis of Brazilian Spotted Fever*

Fabiana Cristina Pereira dos Santos; Marcos Vinícius da Silva (orientador)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2014

---

### ABSTRACT

Brazilian Spotted Fever (BSF) is the main tick borne disease with impact on public health in Brazil. Early symptoms are nonspecific, but the disease may progress rapidly to Febrile Acute Hemorrhagic Syndrome (SFHA) with occurrence of death within a few days. The purpose of this study was to investigate the applications of real-time PCR in the routine laboratory for the etiologic diagnosis of BSF, in the biological samples sent to the laboratory. Two real-time PCR protocols were tested: one for detecting the genus *Rickettsia* spp (*gltA-TaqMan*®) with detection by TaqMan® probe and another for specific detection of Spotted Fever Group species (*OmpA*-SYBR) by SYBR Green detection. The qPCR protocol for RNaseP was used as endogenous internal control. Samples used were blood, serum, blood clot and biopsy from skin lesion of fatal and nonfatal clinically suspected of BSF. The results showed that *ompA*-SYBR protocol suffers interference from the biological matrix and the best performance was obtained with serum samples. Protocols *OmpA*-SYBR and *gltA-TaqMan*® showed results concordance up to 90%. The protocol *gltA-TaqMan*® was more sensitive than *OmpA*-SYBR protocol, but less specificity, particularly for samples with TC > 36. The best performance for BSF qPCR assay was obtained when combining three qPCR protocols (*OmpA*-SYBR, *gltA-TaqMan*® and RNaseP), named FMPCR, were used in serum samples to detection BSF in fatal cases. FMPCR showed low sensitivity for detecting non-fatal cases positive by IFA, the positivity was 21%. The results of this study indicate that FMPCR has sensitivity and specificity to be used as a diagnostic tool for elucidation of fatal BSF.

**KEYWORDS:** Spotted fever Rocky Mountains/diagnosis. *Rickettsia rickettsii*. Polymerase chain reaction in real time.