



Publicação

Expediente

Bibliografia

Gráficos

Setembro, 2004 Ano 1 Número 9

retorna

Diagnóstico Laboratorial da Febre Maculosa Brasileira

*Elvira Maria Mendes do Nascimento; Sílvia Colombo
Instituto Adolfo Lutz*

A febre maculosa é uma doença infecciosa aguda, transmitida pela picada de carrapatos. Caracteriza-se por início brusco com febre alta, cefaléia, dores musculares intensas, e prostração, seguida de exantema máculo papular. O agente etiológico é uma bactéria Gram-negativa intracelular obrigatória, denominada *Rickettsia rickettsii*. No Brasil, o principal vetor da doença é o *Amblyomma cajennense*.

O diagnóstico laboratorial das riquetsioses consiste em provas inespecíficas e específicas. Dentre as provas específicas, os métodos sorológicos são os mais usuais, como *Weil-Felix*, Fixação do Complemento, Microaglutinação, Hemaglutinação Indireta, Aglutinação de Látex, Ensaio Imunoenzimático (Elisa) e Imunofluorescência Indireta. É necessária a realização do diagnóstico diferencial de outras doenças, como meningococemia, sarampo, febre tifóide, dengue, leptospirose, febre amarela e doença de Lyme, entre outras.

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é a técnica de referência utilizada pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e por muitos laboratórios de Saúde Pública. É um teste simples e econômico para o diagnóstico precoce de riquetsioses, estudos soropidemiológicos e para a diferenciação de isolados de riquetsias (BROWN *et al.*, 1983; RAOULT *et al.*, 1986; SCOLA, RAOULT, 1997). A RIFI pode ser usada para detectar anticorpos IgG e IgM em amostras pareadas de soro, na fase aguda e de convalescença da doença (CDC, 2002).

O teste de microimunofluorescência, uma adaptação da RIFI, tem sido utilizado para a tipificação de riquetsias, principalmente nos estudos sobre determinação das relações taxonômicas e epidemiológicas entre riquetsias do Grupo da Febre Maculosa (GFM). Este teste é simples, bastante aplicável, possibilita com uma única gota de soro diluído a reação simultânea com 9 a 16 antígenos diferentes, aumentando a capacidade de diferenciação entre as cepas do GFM e Grupo Tifo (PHILIP *et al.*, 1978).

Na escolha do teste sorológico a ser utilizado no diagnóstico de infecções agudas devem ser consideradas a sensibilidade e a duração do período necessário para o aparecimento de títulos de anticorpos detectáveis. Para os estudos soropidemiológicos, recomendam-se testes com alta especificidade para evitar resultados falso-positivos. Na escolha do teste é preciso considerar as quantidades e custos dos antígenos necessários e o material mínimo requerido.

Com o objetivo de reduzir a demora dos diagnósticos, vários métodos laboratoriais foram desenvolvidos para a detecção direta de riquetsias nos materiais clínicos de pacientes em fase de infecção aguda, como a imunodetecção de riquetsias em tecidos (Imunohistoquímica) ou em

células endoteliais circulantes extraídas de sangue total além do isolamento em cultura de células sistema "shell vial" e a amplificação de DNA riquetsial pela reação em cadeia da polimerase, PCR (SCOLA, RAOULT, 1997).

A imunohistoquímica é a metodologia utilizada para o diagnóstico em biópsia de pele de pacientes infectados (antes da antibioticoterapia ou dentro das primeiras 48 horas pós-antibiótico) ou em tecidos de autópsia, frescos ou preservados em formalina, embebidos em parafina e, então, submetidos à imunofluorescência ou imunoperoxidase. É uma técnica preconizada pelo CDC, departamentos de saúde pública, hospitais universitários e laboratórios comerciais dos Estados Unidos (CDC, 2000).

O isolamento "sistema shell vial" possibilita a obtenção de resultados positivos antes da soroconversão sendo, portanto, utilizado no diagnóstico de casos agudos. Pode ser realizado a partir de materiais como triturado de coágulo, plasma, biópsia de pele, tecido de necrópsia e amostras de artrópodes. Tais materiais podem ser inoculados em animais experimentais, culturas primárias de embrião de galinha ou em linhagens de células VERO, HeLa, WI-38, LLC-MK2, BSC-1 ou Hep-2 entre outras (COX, 1941; CORY et al. 1974; JONHNSON, PEDERSON, 1978). A multiplicação riquetsiana pode ser acompanhada através do efeito citopático (ECP) e a confirmação do grupo de riquetsias é feita através da RIFI (KELLY *et al*, 1991; PAYA *et al.*, 1987; SCOLA; RAOULT, 1997).

O isolamento seguido de caracterização molecular é fundamental para a descoberta de novas riquetsioses, especialmente em regiões onde as riquetsias ainda não tenham sido identificadas, pois diferentes riquetsioses podem apresentar as mesmas manifestações clínicas e os testes sorológicos, frente a determinados antígenos, podem resultar positivos em função da existência de reações cruzadas (JONHNSON, PEDERSON, 1978; WALKER. CAIN, 1980).

As técnicas de biologia molecular para a detecção e identificação de riquetsias podem ser baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR), PCR associada à análise de polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição (PCR/RFLP) ou, ainda, PCR/Sequenciamento. A PCR tem sido utilizada com freqüência, para a detecção de riquetsias em amostras humanas (sangue e tecidos) e em artrópodes. A PCR/RFLP, primeira técnica molecular utilizada na identificação de riquetsias, apresenta resultados reprodutíveis, porém, muitos isolados apresentam o mesmo perfil eletroforético, não sendo possível a identificação de todas as espécies do GFM (SCOLA, RAOULT, 1997). As recentes análises de seqüências de bases de fragmentos de genes riquetsiais amplificados pela PCR, permitiram a diferenciação de inúmeras espécies. Os diagnósticos baseados na PCR podem ser realizados em laboratórios ou centros de referência, necessitando de infra-estrutura relativamente simples, fornecendo resultados rápidos (24 horas) e positivos em pacientes previamente submetidos à terapia com antibióticos. Esta técnica é a de escolha para diagnóstico precoce, especialmente antes da soroconversão (SCOLA, RAOULT, 1997).

Referências Bibliográficas

BROWN, G.W.; SHIRAI, C.ROGERS.;GROVES, M.G. Diagnostic criteria for scrub typhus: probability values for immunofluorescent antibody and Proteus OXK agglutinin titers. Am J Trop Med Hyg, v.32, p.1101-1107,1983.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em:
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rmsf/index.htm> . Acesso em 09/09/04

CORY, J.; YUNKER, C.E.; ORMSBEE, R.A.; PEACOK, M.; MEIBOS, H.; TALLENT, G. Plaque assay of rickettsiae in a mammalian cell line. Appl Microbiol,v. 27, p. 1157-1161,1974.

COX, H.R. Cultivation of rickettsiae of the Rocky Mountain spotted fever, Typhus and Q fever groups in the embryonic tissues of developing chicks. Science, v.94, p. 399-403, 1941.

JONHSON, J.W.; PEDERSEN, C.E. Plaque formation by strains of spotted fever rickettsiae in monolayer cultures of various cell types. J Clin Microbiol, v, 7:p. 389-391, 1978.

KELLY, J.P.; RAOULT, D.; MASON, P.R. Isolation of spotted fever group rickettsial from triturated ticks using a modification of the centrifugation vial technique. Trans R Soc Trop Med Hyg, v. 85, p. 397-398, 1991.

PAYA, C.V.; WOLD, A D.; SMITH, T.F. Detection of cytomegalovirus infections in specimens other than urine by the shell vial assay and conventional tube cell cultures. J Clin Microbiol, v. 25, p. 755-757, 1987.

PHILLIP, R.N.; CASPER, E.A.; BURGDORFER, W.; GERLOFF, R.K.; HUGHES, L.E.; BELL, E.J. Serologic typing of rickettsiae of the spotted fever group by microimmunofluorescence. J Immunol, v. 121, p.1961-1968,1978.

RAOULT, D.; WEILLER, P.J.; CHAGNON, H.; CHAUDET, H.; GALLAIS, H.; CASANOVA, P. Mediterranean spotted fever: clinical, laboratory and epidemiological features of 199 cases. Am J Trop Med Hyg, v. 35, p. 845-850,1986.

SCOLA, B.L.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. J Clin Microbiol, v. 35, p.2715-2727,1997.

Agência Paulista de Controle de Doenças

*Bepa - Av. Dr. Arnaldo, 351 - 12º andar, s. 1.218
Tel.: (11) 3066-8823 / 3066-8824
e-mail: bepa-agencia@saude.sp.gov.br*