

Diretrizes para a Detecção e Vigilância de Oropouche em possíveis casos de infecção vertical, malformação congênita ou morte fetal

17 de julho de 2024

Antecedentes

Desde a primeira detecção do vírus Oropouche (OROV) em 1955 em Trinidad e Tobago, vários surtos de febre Oropouche foram descritos em comunidades rurais e urbanas no Brasil, Equador, Guiana Francesa, Panamá, Peru e Trinidad e Tobago. Nos últimos meses, observou-se um aumento na detecção de casos de febre do Oropouche, particularmente na região amazônica do Brasil, onde mais de 6.000 casos foram notificados, seguido pela Bolívia, Peru e Colômbia, relatando cerca de 1.500 casos adicionais. Além disso, recentemente, Cuba demonstrou a circulação e expansão autóctone em grande parte do seu território, em um ecossistema diferente da bacia amazônica, representando uma acentuada capacidade de adaptação e dispersão. Por outro lado, e embora até o momento a apresentação clínica da doença tenha sido relativamente leve, vícios e limitações na vigilância podem estar impedindo a detecção de casos e sintomas mais graves. Da mesma forma, o Brasil relatou recentemente um caso de aborto espontâneo em que o OROV foi detectado como o possível agente causador, o que somado a quatro (1) possíveis casos de microcefalia revisados em retrospectiva aumentam a possibilidade de transmissão vertical, o que teria um grande impacto na saúde pública.

Neste contexto, e frente à necessidade de reforçar as ações de vigilância e preparação, incluindo a busca ativa e investigação de casos associados a malformações congênitas ou óbito fetal, o diagnóstico e a interpretação laboratorial constituem um componente essencial que deve estar plenamente articulado com a vigilância clínica e epidemiológica.

Diagnóstico e Vigilância Laboratorial de OROV

As orientações sobre o diagnóstico e a vigilância laboratorial de arbovírus emergentes, incluindo OROV, são detalhadas no “Directrices para la Detección y Vigilancia de Arbovirus Emergentes en el Contexto de la Circulación de Otros Arbovirus” (2).

Diagnóstico virológico da infecção por OROV

Tipos de amostra: soro e/ou líquido cefalorraquidiano (LCR)¹

Durante a fase aguda da doença (entre 2 e 7 dias), é possível detectar o material genético (RNA) do vírus por métodos moleculares (PCR em tempo real ou qPCR). O RNA também pode ser detectado no líquido

¹ Recomenda-se o uso de amostra de líquido cefalorraquidiano (ou líquido) desde que haja indicação médica para a coleta da amostra

cefalorraquidiano (LCR), em casos de meningite asséptica (uma complicação rara da febre de Oropouche) ou suspeita de doença neurológica; no entanto, uma amostra do LCR só deve ser coletada quando houver uma indicação médica e para o estudo de outras causas. A maioria dos métodos moleculares para a detecção de OROV é baseada na detecção do segmento genético conservado S (2 - 4).

Diagnóstico sorológico da infecção por OROV

Tipos de amostra: soro e/ou líquido cefalorraquidiano (LCR)¹

Os anticorpos contra OROV geralmente podem ser detectados no soro a partir do quinto dia após o início dos sintomas. Até o momento, não existem ensaios comerciais para o diagnóstico sorológico de OROV, portanto, ele só pode ser realizado usando técnicas "*in-house*", como neutralização por redução de placa (PRNT) e ELISA IgM / IgG (2).

O diagnóstico a partir de uma única amostra de soro de fase aguda é presuntivo, pelo que se recomenda a coleta de uma segunda amostra, uma a duas semanas após a primeira amostra, para demonstrar a soroconversão (negativa para positiva) ou um aumento máximo de quatro vezes no título de anticorpos (com um teste quantitativo) (2).

No entanto, vale a pena notar que a disponibilidade de reagentes para métodos sorológicos é extremamente limitada. Portanto, recomenda-se priorizar e usar métodos moleculares (RT-PCR), desde que as amostras apropriadas estejam disponíveis.

Evidência de transmissão vertical de OROV e diagnóstico laboratorial

Atualmente, a possível transmissão vertical do OROV está sendo investigada levando em consideração vários achados laboratoriais (1). Em um estudo retrospectivo realizado no Brasil, foi possível detectar a presença de anticorpos IgM contra OROV no soro e no LCR em quatro neonatos. Esses neonatos apresentaram microcefalia, no entanto, não foi possível estabelecer uma relação causal entre a infecção por OROV e as malformações neurológicas observadas. Por outro lado, o material genético de OROV foi identificado no sangue do cordão umbilical, placenta e vários órgãos de um óbito fetal ocorrido na 30ª semana de gestação, o que sustenta uma possível transmissão vertical do OROV. Segundo a Secretaria de Saúde e Vigilância Ambiental do Ministério da Saúde Pública do Brasil, análises laboratoriais, epidemiológicas e clínicas conjuntas estão sendo realizadas para concluir a classificação final deste caso em particular (1).

Desde o aumento repentino do número de casos de OROV na região amazônica, a OPAS tem prestado apoio técnico aos países da região para melhorar a capacidade de detectar e caracterizar os vírus Oropouche e Mayaro de maneira oportuna (5). As evidências acima mencionadas enfatizam a necessidade de fortalecer a vigilância do OROV nos casos em que há suspeita de transmissão vertical.

Nesse sentido, algumas recomendações para vigilância laboratorial de OROV em gestantes, natimortos indicativos de infecção congênita e neonatos saudáveis e/ou com evidência de complicações ou malformações neurológicas estão listadas a seguir.

Diagnóstico laboratorial de OROV em gestantes

O diagnóstico de infecção por OROV em gestantes pode ser feito de acordo com os critérios descritos acima: amostra de soro para detecção de material genético viral (RT-PCR) ou detecção de IgM, dependendo da fase da infecção. No entanto, como a transmissão vertical está sendo estudada para OROV, é importante monitorar de perto a mãe e o recém-nascido.

Assim, uma amostra de líquido amniótico coletada sob indicação médica pode ser usada para:

1. Detecção molecular de material genético viral (RT-PCR). Um resultado positivo indica possível transmissão transplacentária de OROV.
2. Detecção de anticorpos. Um resultado positivo para IgM significa infecção intrauterina do feto.

*Consulte as tabelas 1 e 2 para amostras recomendadas.

Diagnóstico laboratorial de OROV associado a natimortos indicativos de infecção congênita

Em casos de aborto espontâneo e natimorto, uma amostra de soro (se possível) para detecção de anticorpos IgM (ELISA) deve ser obtida e, em qualquer caso, uma amostra de tecido (de preferência do sistema nervoso) também deve ser obtida. Além disso, recomenda-se analisar amostras de soro da mãe em paralelo para determinação de anticorpos IgM.

Por outro lado, e se uma amostra de líquido amniótico estiver disponível (coletada sob indicação médica), ela pode ser usada para detecção molecular por RT-PCR. Além disso, dependendo do estágio gestacional, recomenda-se utilizar o LCR para realizar a detecção molecular do material genético viral por RT-PCR e para sorologia (IgM).

*Consulte as tabelas 1 e 2 para amostras recomendadas.

Diagnóstico laboratorial de OROV em neonatos

Neonatos saudáveis de mães infectadas: Recomenda-se realizar a detecção do OROV (molecular e sorológico) em amostras de placenta coletadas no momento do parto, fluido do cordão umbilical e soro do recém-nascido e da mãe.

Neonatos com evidência de complicações neurológicas ou malformação: Além de realizar a detecção do OROV (molecular e sorológico) em amostras de placenta coletadas no momento do parto, fluido do cordão umbilical e soro do recém-nascido e da mãe, a detecção do vírus no LCR¹ também é

recomendada.

*Consulte as tabelas 1 e 2 para amostras recomendadas.

Tabela 1. Amostras recomendadas, dias após o início dos sintomas e exames laboratoriais indicados para a detecção do vírus.

| Amostra | Dias após o início dos sintomas | Quantidade | Meios de transporte | Condições de transporte | Armazenamento >1 semana | Ensaio de Laboratório |
|---------|---------------------------------|------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Soro | 1 a 5 | 5-7 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR |
| Soro | 5 a 7 | 5-7 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM |
| Soro | 7 em diante | 0,5-1mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | ELISA IgM |
| Urina* | 5 a 15 | 5-7 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR |
| LCR** | | 0,5 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM |

* Não há evidências suficientes para determinar a dinâmica da presença de OROV na urina, no entanto, para facilitar a investigação e entender melhor o processo de infecção, recomenda-se, se possível, coletar uma amostra de urina quando não houver outras amostras disponíveis

** Sob indicação médica para diagnóstico de doença neurológica

Tabela 2. Outras amostras recomendadas, condições de armazenamento e transporte e ensaios laboratoriais indicados para a detecção do vírus.

| Amostra | Quantidade | Meios de transporte | Condições de transporte | Armazenamento >1 semana | Ensaio de Laboratório |
|----------------------------|------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Soro da mãe | 5-7 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM, PRNT, outros |
| Sangue do cordão umbilical | 0,5-1mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM, PRNT, outros |
| Placenta | 3 x 3 cm (aprox) | Formol tamponado | 4 °C - Ta* | 4 °C - Ta* | Imuno-histoquímica |
| Placenta | 3 x 3 cm (aprox) | Solução salina | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR |
| Cordón umbilical (tecido) | | Formol tamponado | 4 °C - Ta* | 4 °C - Ta* | Imuno-histoquímica |
| Cordón umbilical (tecido) | | Solução salina estéril ou tubo seco | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR |
| Soro recém-nascido | 0,5-1mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM, PRNT, outros |
| Líquido amniótico** | 0,5-1mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR |
| LCR recém-nascido** | 0,5 mL | Sem aditivos | 4 / 8 °C | -20 /-70 °C | PCR, ELISA IgM, PRNT, outros |
| Sangue total da mãe | 5-7 mL | EDTA, outros | 4 / 8 °C | 4 °C | Bioquímica, outros |

| | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|-------------------------------------|------------|------------|--------------------|
| Sangue total recém-nascido | 2-5 mL | EDTA, outros | 4 / 8 °C | 4 °C | Bioquímica, outros |
| Tecido*** | 3 x 3 cm (aprox) | Formol tamponado | 4 °C - Ta* | 4 °C - Ta* | Imuno-histoquímica |
| Tecido*** | 3 x 3 cm (aprox) | Solução salina estéril ou tubo seco | 4 / 8 °C | | PCR |

*Temperatura ambiente

** Sob indicação médica para suspeita de síndrome neurológica

***Casos fatais: Cérebro, fígado, rim, produto abortivo, outros

Armazenamento de amostras

- Manter refrigerada (4 °C – 8 °C) em caso de processamento (ou enviado para um laboratório de referência) dentro das 48 horas
- Manter congelada (-10 °C a -20 °C) em caso de processamento após as primeiras 48 horas ou por um período não superior a 7 dias.
- Manter congelada (-20 a -70 °C) em caso de processamento após uma semana. A amostra é devidamente preservada por longos períodos.

Envio de amostras por via aérea para o laboratório de referência

- A cadeia de frio das amostras deve ser garantida. Envie (se possível) com gelo seco ou pelo menos com géis de resfriamento. Use sempre embalagens triplas.
- Envie nas primeiras 48 horas.
- As amostras originais devem ser embaladas, marcadas, rotuladas (se for usado gelo seco) e documentadas como categoria B.
- Envie sempre a ficha clínica e epidemiológica completa.

Comentários e recomendações adicionais

- Dada a apresentação clínica da febre de Oropouche, para detecção e acompanhamento, sugere-se o processamento de amostras agudas (até 7 dias após o início dos sintomas) da vigilância da dengue, que atendam à definição de caso suspeito de dengue, mas que sejam negativas para a detecção molecular do vírus da dengue. Dependendo da capacidade laboratorial e do contexto epidemiológico, uma porcentagem de amostras agudas negativas pode ser processada para detecção molecular de dengue (que pode variar entre 10% e 30%) ou um número limitado de amostras representativas (2).
- Existem diferentes protocolos (iniciadores e sondas) para a detecção de OROV por RT-PCR (convencional e em tempo real). No entanto, vários países da região vêm utilizando o protocolo desenvolvido por Naveca e colaboradores (4) que permite a detecção molecular simultânea dos vírus OROV e Mayaro (MAYV), fortalecendo a capacidade diagnóstica laboratorial para ambos os vírus.
- O isolamento viral não é considerado uma técnica diagnóstica, sendo recomendado apenas para ensaios complementares à vigilância em saúde pública.
- Os laboratórios que não possuem capacidade de confirmação virológica (RT-PCR, isolamento viral, sequenciamento) ou confirmação sorológica (PRNT), devem enviar as amostras para um laboratório de

referência ou centro colaborador da Organização Mundial da Saúde. Antes de fazer qualquer remessa, contacte-se com as pessoas de contato em cada centro e com o escritório da Organização Pan-Americana da Saúde em Washington DC.

Referências:

- 1- [Nota Técnica nº 15/2024-SVSA/MS — Ministério da Saúde \(www.gov.br\)](http://www.gov.br)
- 2 - Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Directrices para la detección y vigilancia de arbovirus emergentes en el contexto de la circulación de otros arbovirus. 18 de abril de 2024 Washington, D.C.: OPS/OMS; 2024. Disponible en: [Directrices para la Detección y Vigilancia de Arbovirus Emergentes en el Contexto de la Circulación de Otros Arbovirus - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud \(paho.org\)](https://paho.org)
- 3 - Organización Panamericana de la Salud. Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas. Washington, D.C.: OPS; 2022. Disponible en: [Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas \(paho.org\)](https://paho.org)
- 4 - Naveca FG, Nascimento VAD, Souza VC, Nunes BT, Rodrigues DSG, Vasconcelos P. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(7):510-3. Disponible en inglés en: <https://doi.org/10.1590/0074-02760160062>
- 5 – Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Países de las Américas Fortalecen Preparativos ante el Virus Oropouche. 9 de julio de 2024. Disponible en: [Países de las Américas Fortalecen Preparativos ante el Virus Oropouche - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud \(paho.org\)](https://paho.org)