

ORIENTAÇÕES PARA INVESTIGAÇÃO DE CASOS SUSPEITOS DE INFECÇÃO PELO *Monkeypox virus*

I - Introdução

Recentemente, casos de infecção *Monkeypox virus* têm sido relatados em Portugal, Espanha, Inglaterra e Estados Unidos. Até bem pouco tempo, todos os casos fora da África eram casos importados de viajantes recentes à República Democrática do Congo ou à Nigéria. Os casos reportados em maio de 2022 são os primeiros casos autóctones, cuja via de transmissão ainda não se tem estabelecida ao certo (1).

O *Monkeypox virus*, embora seja conhecido por causar a “varíola de macacos” ou “varíola símia”, é um vírus que infecta roedores na África, e macacos são provavelmente hospedeiros acidentais, assim como o homem (2). Até o momento só foi isolado de macacos na natureza em uma ocasião (3) e o nome foi cunhado erroneamente devido à sua identificação pela primeira vez em 1958 em um surto da doença em macacos de cativeiro usados em pesquisa. Em 1970, o primeiro surto em humanos foi relatado na África. A vacinação contra a varíola, então usada rotineiramente na época, protege contra infecção por *Monkeypox virus*. Assim, o número e amplitude dos surtos começaram a subir com a suspensão da vacinação antivariólica mundialmente no início da década de 1980. O número de pessoas suscetíveis, desde então, certamente aumenta a cada ano. Contudo, até maio de 2022, todos os surtos estavam restritos ao continente Africano com a exportação eventual de casos para outros países por viajantes infectados, com taxa de transmissão secundária bem baixa.

A infecção por *Monkeypox virus* não é uma infecção sistêmica. A clínica é bem similar à varíola humana, porém com baixas taxas de transmissão secundária e de letalidade (normalmente em torno de 1%, mas podendo chegar até 8%, dependendo do subgrupo do *Monkeypox virus*). O período de incubação é de 2 a 17 dias, podendo se estender até 21 dias, quando se segue o período prodromico de sintomas gripais como febre, mal-estar, dor de garganta. Com a elevação da temperatura segue uma linfadenopatia pronunciada, com a apalpação clara de gânglios cervicais ou sub-mandibulares, axilares ou ainda inguinais, uni ou bi-lateralmente. Esta é uma característica bem marcante da infecção por *Monkeypox virus* que distingue do curso clínico da varíola humana (2).

Em seguida, vem o período de *rash* cutâneo com lesões em 4 fases claras: máculas, pápulas, vesículas e pústulas, que progridem pelas fases de forma simultânea (diferentemente de catapora, por exemplo). Mais evidentes nas extremidades, incluindo as plantas dos pés e palmas das mãos e mais escassas no tronco, ou seja, distribuição preferencialmente centrífuga. As lesões pustulares são tipicamente umbilicadas com reentrância (depressão) central, muito típicas de poxviroses. Após 2 a 3 semanas, as pústulas secam e as crostas caem, deixando a região de pele despigmentada. A partir desse momento, não há mais risco de transmissão. A transmissão se dá por via respiratória próxima por meio de gotículas de secreção respiratória ou contato direto com o material das pústulas, assim como por fômites (2). Nos casos recentes de maio de 2022, a via provável que está sendo investigada é a sexual.

Porém, ainda é preciso mais estudos para comprovação, pois não é uma via usual de transmissão de poxvírus.

Dois clados filogenéticos (subtipos virais) de *Monkeypox vírus* existem: o clado *West African* (WA) e *Congo Basin* ou *Central African* (CB ou CA), sendo o primeiro menos virulento e que causa surtos na Nigéria. Todos os casos até o momento em maio de 2022 são do subtipo WA.

II – Orientações para Coleta, Transporte e Armazenamento de Amostras Clínicas

1) Material vesicular (Secreção de Vesícula): O ideal é a coleta na fase aguda ainda com pústulas vesiculares. É quando se obtém carga viral mais elevada na lesão. Portanto, swab do conteúdo da lesão é o material mais indicado. Swabs estéreis de nylon, poliéster ou Dacron são os indicados, bem como o Swab de Rayon. Também pode-se puncionar com seringa o conteúdo da lesão, mas prefere-se o swab para evitar a manipulação de pérfurocortantes. Colocar o swab preferencialmente em tubo seco, SEM líquido preservante, uma vez que os poxvírus mantêm-se estáveis na ausência de qualquer meio preservante. Se optar por usar algum líquido preservante, indica-se o VTM (meio de transporte viral), no máximo cerca de 300 ul, porém o ideal é manter o swab sem líquido (4). Havendo lesões na cavidade bucal, pode-se recolher material das lesões com swab.

2) Crosta (Crosta de Lesão): Quando o paciente é encaminhado para coleta em fase mais tardia na qual as lesões já estão secas, o material a ser encaminhado são crostas das lesões, preferencialmente optar pelas crostas menos secas, ou seja, coletar aquelas em fase mais inicial de cicatrização, pois a chance de detecção de genoma viral ou da partícula viral é maior. As crostas devem ser armazenadas em frascos limpos SEM líquido preservante (neste caso, o uso de qualquer líquido preservante reduz em muito as chances de detecção).

Observações:

- a) *Sangue não é um material indicado para detecção de poxvírus, pois o período de viremia alta é anterior ao aparecimento das pústulas que, normalmente, é quando o paciente comparece a um posto de atendimento;*
- b) *A coleta de soro é importante para verificar a soroconversão. Para fins de diagnóstico, só se for associado a uma clínica muito clara e sugestiva;*
- c) *O principal diagnóstico diferencial de infecção por Monkeypox vírus é a Varicela.*

Para o armazenamento, todos os materiais devem ser mantidos congelados a -20 °C (ou temperaturas inferiores), preferencialmente, por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezers, pode-se manter em geladeira (4 °C) por até 7 dias. Este deve ser feito para chegada em no máximo 48 horas para que o transporte possa ser feito de forma refrigerada apenas com gelo-pack. Caso contrário, enviar congelado.

Para as investigações laboratorial de casos suspeitos de infecção pelo *Monkeypox vírus* a Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/DAEVS/SVS-MS) em parceria com a Sala de Situação e a Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (SISLAB) sugerem o seguinte fluxo/algoritmos para investigação:

CASO SUSPEITO: Indivíduo de qualquer idade que, a partir de 15 de março de 2022, apresente início súbito de erupção cutânea aguda sugestiva* de Monkeypox, única ou múltipla, em qualquer parte do corpo (incluindo região genital), associada ou não a adenomegalia ou relato de febre E histórico de viagem a país endêmico ou com casos confirmados de Monkeypox nos 21 dias anteriores ao início dos sintomas **OU** ter vínculo epidemiológico** com pessoas com histórico de viagem a país endêmico ou país com casos confirmados de Monkeypox, desde 15 de março de 2022, nos 21 dias anteriores ao início dos sinais e sintomas **OU** ter vínculo epidemiológico** com casos suspeitos, prováveis ou confirmados de Monkeypox, desde 15 de março de 2022, nos 21 dias anteriores ao início dos sinais e sintomas **OU** histórico de contato íntimo com desconhecido/a(s) e/ou parceiro/a(s) casual(is), nos últimos 21 dias que antecederam o início dos sinais e sintomas

NOTIFICAÇÃO: RedCap

Coleta de Amostras* e envio ao LACEN

1. Material vesicular (Secreção de Vesícula): Swab de secreção
2. Crosta (Crosta de Lesão): Raspado ou fragmento
3. Sangue Total: 10ml

SOLICITAÇÃO EXAME (Sistema GAL): Monkeypox Vírus

LACEN enviam amostras para os Laboratórios de Referência

1. Material vesicular (Secreção de Vesícula): Swab
2. Crosta (Crosta de Lesão): Raspado ou fragmento
3. Soro: 3ml, que deverá ser centrifugado do Sangue Total

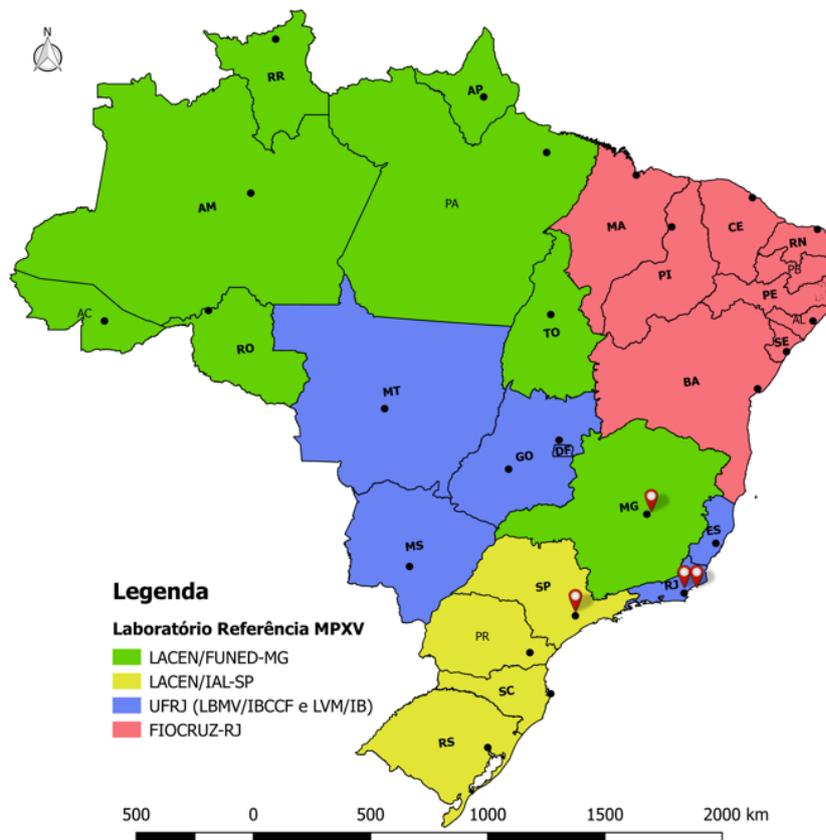
CASO PROVÁVEL: Caso suspeito, submetido a investigação clínica e epidemiológica, E que cursou com quadro clínico compatível com Monkeypox, porém sem possibilidade de confirmação laboratorial por PCR em Tempo Real e/ou Sequenciamento

CASO CONFIRMADO: Indivíduo que atende à definição de caso suspeito com resultado/laudo de exame laboratorial "Positivo/Detectável" para Monkeypox vírus (MPXV) por diagnóstico molecular (PCR em Tempo Real e/ou Sequenciamento).

CASO DESCARTADO: Indivíduo que atende à definição de caso suspeito com resultado/laudo de exame laboratorial "Negativo/Não Detectável" para Monkeypox vírus (MPXV) por diagnóstico molecular (PCR em Tempo Real e/ou Sequenciamento), **OU** Caso suspeito que durante a investigação clínica, epidemiológica e laboratorial foi diagnosticada outra doença compatível com o quadro apresentado pelo paciente, exceto ISTs.

**A erupção característica associada às lesões da MPX envolve o seguinte: lesões profundas e bem circunscritas, muitas vezes com umbilicação central; e progressão da lesão através de estágios sequenciais específicos – máculas, pápulas, vesículas, pústulas e crostas; isso às vezes pode ser confundido com outras doenças que são mais comumente encontradas na prática clínica (por exemplo, sífilis secundária, herpes e varicela zoster). Historicamente, relatos esporádicos de pacientes coinfectados com o vírus Monkeypox e outros agentes infecciosos (por exemplo, varicela zoster, sífilis) foram relatados, portanto, pacientes com erupção cutânea característica devem ser considerados para testes, mesmo que outros testes sejam positivos.*

***Exposição próxima e prolongada sem proteção respiratória; contato físico direto, incluindo contato sexual, mesmo com uso de preservativo; ou contato com materiais contaminados, como roupas ou roupas de cama.*



Laboratório de Enterovírus da FIOCRUZ-RJ

Responsáveis: Dr.Edson Elias da Silva e Fernanda Burlandy

Endereço: Avenida Brasil, nº 4.365, Manguinhos, Rio de Janeiro/RJ

CEP: 21.040-360

Telefone: (21) 2562-1804/1828/1734

E-mail: enterolb@ioc.fiocruz.br; edson@ioc.fiocruz.br; fburlandy@ioc.fiocruz.br

Estados de Cobertura: AL, BA, CE, MA, PB, PE, PI, RN, SE

Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais/Fundação Ezequiel Dias (LACEN/FUNED-MG)

Responsável: Dr.Glauco de Carvalho Pereira

Endereço: Rua Conde Pereira Carneiro, nº80, Bairro Gameleira, Belo Horizonte/MG

CEP: 30.510-010

Telefone: (31) 3314-4668

E-mail: liomlacen@funed.mg.gov.br

Estados de Cobertura: MG, AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO

Laboratório Central de Saúde Pública de São Paulo/Instituto Adolfo Lutz (LACEN/IAL-SP)

Responsável: Dra.Adriana Bugno

Endereço: Av. Dr. Arnaldo, nº355, Bairro Cerqueira Cesar, São Paulo/SP

CEP: 01.246-902

Telefone: (11) 3068-3088/3041

Geral: (11) 3068-2802/2801/ 2977

E-mail: expedientedg@ial.sp.gov.br; diretoria_geral@ial.sp.gov.br

Estados de Cobertura: SP, PR, SC, RS

Laboratório de Biologia Molecular de Vírus do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e Laboratório de Virologia Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LBMV/IBCCF/UFRJ e LVM/IB/UFRJ)

Responsável: Profa.Dra.Clarissa Damaso

Endereço: Av. Carlos Chagas Filho, n.373, CCS, Bloco C, Sala C1-028, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro (RJ),

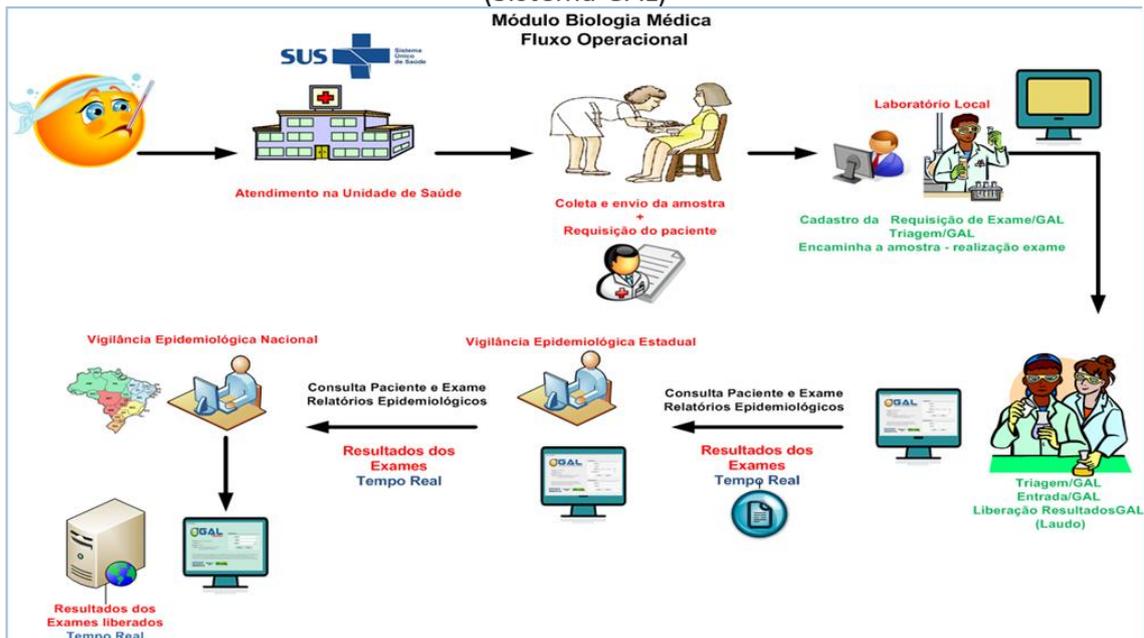
CEP: 21941-902

Telefones: (21) 3938-6510 / 9.9525-5201

E-mail: damasoc@biof.ufrj.br

Estados de Cobertura: ES, DF, GO, MT, MS, RJ

ORIENTAÇÕES PARA SOLICITAÇÃO DOS DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL (Sistema GAL)



SOLICITAÇÃO DE EXAMES (Diagnóstico Diferencial)

O paciente com suspeita de infecção pelo *Monkeypox virus* admitido em uma unidade de saúde deve ter amostras coletadas de Material vesicular (Secreção de Vesícula), Crosta (Crosta de Lesão); Sangue Total, respeitando os cuidados relacionados a biossegurança, com utilização de todos os EPIs (Gorro, Mascara, Óculos, Avental e Luvas).

Para solicitar os exames relacionados pelo diagnóstico diferencial no Sistema GAL, faz-se necessário preenchimento das variáveis obrigatórias e mais:

-**Finalidade:** Investigação

-**Descrição:** Monkeypox Vírus

-**Agravo/Doença:** Varíola

-**Data 1º sintomas:** (data do início dos sintomas)

-**Nova Amostra:** Sangue Total **OU** Secreção Naso/orofaringe **OU** Urina **OU** Secreção **OU** Fragmento

-**Nova Pesquisa:** Monkeypox vírus - Secreção de Vesícula (Secreção) **OU** Monkeypox Virus - Crosta de Lesão (Fragmento) **OU** Monkeypox Virus - Sangue Total

*Lembrar de vincular o tipo da "**Nova Amostra**" com o tipo da "**Nova Pesquisa**".

Seguem os modelos de "**Nova Pesquisa**" disponíveis na Biologia Médica/Configurações/ Pesquisas na área do administrador do **APP GAL BETA** (<http://appgalbeta.datasus.gov.br/administrador/>), que deverão ser configuradas no fluxo do Laboratório Solicitante e Executor

ORIENTAÇÕES PARA SOLICITAÇÃO DOS DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL
(Sistema GAL)

Biologia Médica :: Visualização de Pesquisas

 Incluir  Alterar |  Ativar  Desativar

Código	Nome	Status
10407	Monkeypox virus - Secreção de Vesícula (Secreção)	Ativa
10408	Monkeypox virus - Crosta de Lesão (Fragmento)	Ativa
10404	Monkeypox virus - Sangue Total	Ativa

Monkeypox virus - Secreção de Vesícula (Secreção)

Exame	Metodologia	Material
Varíola	PCR em Tempo Real	Secreção
Varicela Zoster, Biologia Molecular	PCR em Tempo Real	Secreção

Monkeypox Virus - Crosta de Lesão (Fragmento)

Exame	Metodologia	Material
Varíola	PCR em Tempo Real	Fragmento
Varicela Zoster, Biologia Molecular	PCR em Tempo Real	Fragmento

Monkeypox Virus - Sangue Total

Exame	Metodologia	Material
Herpes Simplex 1 e 2 - Biologia Molecular	PCR duplex em tempo real	Sangue Total
Sífilis, Teste Rápido	Imunocromatografia	Sangue Total

III – Conclusão

As ações e atividades de vigilância dos casos de Monkeypox conduzirá uma gestão do risco mais eficaz e, por conseguinte, a uma proteção mais efetiva da saúde da população brasileira ao nortear um processo de tomada de decisão sólido e coerente pelas autoridades de saúde do país.

IV - Referências

1. https://www.who.int/health-topics/monkeypox#tab=tab_1
2. DAMON, I., 2013. Poxviruses, Fields Virology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
3. Radonić, A., Metzger, S., Dabrowski, P., Couacy-Hymann, E., Schuenadel, L., Kurth, A....Nitsche, A. (2014). Fatal Monkeypox in Wild-Living Sooty Mangabey, Côte d'Ivoire, 2012. Emerging Infectious Diseases, 20(6), 1009-1011.
4. CDC protocol – Poxvirus Molecular Detection - <https://www.cdc.gov/laboratory/specimen-submission/detail.html?CDCTestCode=CDC-10515>

Amostra Clínica	Tipo de Diagnóstico	Procedimento de Coleta	Armazenamento e Conservação	Acondicionamento e Transporte	Observações
Secreção de Lesão	Biologia Molecular (qPCR e Sequenciamento)	Coletar amostras de secreção das lesões com swab de dácron, poliéster, nylon secos ou Ryon, em fase aguda da doença. Sugere-se coletar secreção de mais de uma lesão.	Armazenar, preferencialmente em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte. Se necessário, utilizar 300 ul de meio de transporte viral (VTM). Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável. Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável.	Os frascos devem, obrigatoriamente, conter rótulo com as seguintes informações: nome completo do paciente, data da coleta e natureza da amostra (tipo de espécime biológico). A confiabilidade dos resultados dos testes laboratoriais depende dos cuidados durante a coleta, o manuseio, o acondicionamento e o transporte dos espécimes biológicos.
Crosta de Lesão	Biologia Molecular (qPCR e Sequenciamento)	Coletar fragmentos ou crosta ressecada da lesão em fase mais tardia da doença. Sugere-se coletar crosta de lesão de mais de uma lesão.	Armazenar em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte. Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.		
Sangue Total	Biologia Molecular	Coletar cerca de 5 ml (criança) e 10 ml (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, para obtenção do soro ou com EDTA para obtenção do plasma, sendo a coleta realizada até o 5º dia a partir do início dos sintomas. Aliquotar 2-3 ml do soro/plasma para realizar testes moleculares.	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.		