

ENTEROVÍRUS, INFECÇÃO POR - RT-QPCR QUALITATIVO [cód. 12522]

INFORMAÇÕES GERAIS

NOME DO EXAME

Enterovírus

OUTROS NOMES DO EXAME

Enterovírus não Pólio; Gripe de Verão;

UTILIDADE DO EXAME

São vírus responsáveis por doenças frequentes em bebês, crianças e adolescentes, com manifestações clínicas extremamente variáveis. Diferentes tipos circulam a cada ano. Surto de enterovírus D-68 causa doença respiratória grave em crianças

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA

INFORMAÇÃO CLÍNICA

Enterovírus são membros da família dos picornavírus, um grupo grande e diverso de pequenos vírus de RNA caracterizados por um único RNA genômico de fita positiva. Enterovírus é um gênero de vírus de RNA de fita simples de sentido positivo associado a várias doenças humanas. Todos os enterovírus contêm um genoma de aproximadamente 7.500 bases e são conhecidos por terem uma alta taxa de mutação devido à replicação de baixa fidelidade e recombinação frequente. Após a infecção da célula hospedeira, o genoma é traduzido de forma independente de cap em uma única poliproteína, que é subsequentemente processada por proteases codificadas por vírus nas proteínas do capsídeo estrutural e nas proteínas não estruturais, que estão principalmente envolvidas na replicação do vírus.

Enterovírus isolados mais recentemente são nomeados com um sistema de números consecutivos: EV-D68, EV-B69, EV-D70, EV-A71, etc., onde a genotipagem é baseada na região do capsídeo VP1. Enterovírus afetam milhões de pessoas no mundo todo a cada ano e são frequentemente encontrados nas secreções respiratórias (por exemplo, saliva, escarro ou muco nasal) e fezes de uma pessoa infectada. Historicamente, a poliomielite foi a doença mais significativa causada por um enterovírus, ou seja, o poliovírus.

Utilizamos o método primer-sonda para detecções de fragmentos do DNA/RNA virais em equipamentos de PCR em tempo real (RT-qPCR ou transcriptase reversa qualitativa e quantitativa PCR). Logo, este método de detecção é direto. A tabela 1 apresenta as informações dos protocolos de amplificação utilizados assim como a comparação deles com alguns kits comerciais.

INTERPRETAÇÕES

Os vírus e respectivas regiões-alvos de seus genomas estão descritos na primeira e segunda colunas, respectivamente. Os limites de detecção apresentados na terceira coluna foram estimados através da diluição seriada dos genomas virais, sendo consideradas os menores números de cópias para os quais 100% das reações foram positivas. As porcentagens de concordâncias dos resultados positivos e negativos obtidos com nosso protocolo e outros protocolos comerciais estão apresentados na quarta e na quinta colunas, respectivamente.

Tabela 1. Protocolo de detecção dos vírus respiratórios.

Vírus	Região alvo	Limite de Detecção (cópias por reação)	Resultados positivos	Resultados negativos
-------	-------------	---	----------------------	-------------------------

Enterovírus	5'UTR	1.000	90%	98,3%
-------------	-------	-------	-----	-------

Observações: Resultados obtidos na comparação com o ensaio FTD Respiratory pathogens 21 kit - Fast Track Diagnosis (Siemens);

Interpretação do Exame

1. Resultado "Detectado" indica a presença do patógeno na amostra.
2. Resultado "Não Detectado" indica a ausência do patógeno ou concentração inferior ao limite de detecção (LoD) do teste.
3. Resultado "Inconclusivo": Sem amplificação do controle interno.

Nem todos os resultados positivos indicam infecção ativa atual. Episódios assintomáticos são especialmente comuns para bocavírus e rinovírus, então um julgamento clínico deve ser feito sobre se o vírus detectado está causando os sintomas do paciente ou se os sintomas estão ocorrendo incidentalmente durante um período de detecção viral assintomática.

Estabilidade

Refrigerada: 2° a 8°C até 72 horas

MÉTODO

METODOLOGIA

Deteção baseado em Tecnologia do PCR em tempo real (RT-PCR). A deteção dos vírus são detectados com primers de sonda Taqman da Thermo Fisher®. Os ensaios moleculares multiplex, que dependem da deteção de ácidos nucleicos virais, fornecem resultados rápidos com alta sensibilidade e especificidade, tornando-os testes ideais quando usados no contexto de uma avaliação clínica cuidadosa.

PRAZO

Até 6 horas

AMOSTRA

TIPO DE ESPÉCIME

Obtenção de amostras Swab Nasal ou Escarro. Exame exclusivamente para pacientes com sintomatologia.

INFORMAÇÃO NECESSÁRIA

A amostra para exame pode ser coletado no domicílio sem qualquer custo adicional. Os prazos para entrega de resultados obedecem aos seguintes critérios: Amostras coletadas no domicílio (preferível) das 7 às 12 horas terão laudos emitidos até as 18 horas do mesmo dia. Amostras coletadas no domicílio entre 13 e 24 horas terão laudos emitidos até as 7 h do dia seguinte.

INSTRUÇÕES DE ENVIO

Conservação para transporte em São Paulo a temperatura ambiente (estável por 48 horas).

AMOSTRAS REJEITADAS

Amostras enviadas sem meio de transporte viral

Aliquotagem de amostras para exames moleculares

Alíquota refere-se a uma parte ou porção representativa de uma amostra maior, que é separada para ser utilizada em um outro experimento.

Para que nenhuma informação seja perdida nesse processo, o laboratório deve manter um controle de aliquotagem e em um primeiro momento, o técnico identifica o microtubo que receberá a alíquota e ao mesmo tempo registra junto ao sistema. A aliquotagem deve ser feita por um técnico de laboratório familiarizado com os objetivos da alíquota e os resultados esperados.

O exemplo de aliquotagem será do líquido de Citologia de Base Líquida (CBL). A CBL, também conhecida como citologia oncótica em meio líquido ou citologia em meio líquido, é uma técnica que em vez de as células serem raspadas diretamente na lâmina, como na citologia tradicional, elas são coletadas e suspensas em um líquido preservante, o que facilita a detecção de possíveis lesões. O líquido preservante tem na sua composição o metanol que é tóxico para pele, olhos e fígado, então o uso de luvas torna-se imprescindível nesta etapa.

O líquido da CBL pode conter um número variável células livres, debris celulares, células inflamatórias, hemácias, bactérias, vírus, fungos, protozoários, DNA livre, espermatozoides, fibrina, traços de cremes ou outras substâncias usada anteriormente para lavagem vaginal, e muito mais. Tudo isso vem parcialmente livre no líquido preservante ou sedimentado do fundo do frasco. O exame de Patologia Molecular visa extrair todo DNA/RNA contido na amostra. O técnico deve homogeneizar a amostra para tudo ser representado submetendo a amostra a forte agitação motora. Em seguida transferir 1,5 ml desse líquido usando uma pipeta de Pasteur para o microtubo e descartá-la. Usar um microtubo com tampa de rosca (Kasvi é recomendado) e nunca a um microtubo de fechamento por pressão, pois este pode abrir espontaneamente no traslado ao laboratório. Lembre-se, se aliquotar mais que o necessário (CBL originalmente com 18 ml de preservante), pode-se interferir no processamento automático da citologia por pouco líquido. Nestes casos o técnico deverá repor a volumetria com líquido preservante ou mesmo álcool 70% na falta do primeiro.

