

VÍRUS DA PARAINFLUENZA 1/2/3, INFECÇÃO POR - RT-QPCR QUALITATIVO [cód. 12518]

INFORMAÇÕES GERAIS

NOME DO EXAME

Vírus da Parainfluenza 1 / 2 / 3

OUTROS NOMES DO EXAME

HPIV-1; HPIV-2; HPIV-3; HPIV-4; Teste do vírus da parainfluenza humana; Teste HPIV; Teste HPIV-1; Teste HPIV-2, teste HPIV-3; Paraflu 1-4 PCR; Parainfluenza 1-4 por PCR; Painel de PCR parainfluenza; PIV

UTILIDADE DO EXAME

Os testes de PCR para parainfluenza são úteis para o diagnóstico rápido e preciso de infecções pelo vírus parainfluenza orientando o tratamento adequado e as medidas de controle de infecção.

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA

INFORMAÇÃO CLÍNICA

Os vírus da parainfluenza humana (HPIVs) são vírus de RNA não segmentados que pertencem aos gêneros Paramyxovirus (HPIV tipo 1 [HPIV-1] e HPIV-3) e Rubulavirus (HPIV-2 e HPIV-4) da família Paramyxoviridae. O HPIV-4 é dividido em dois subtipos, subtipos A e B, com base nas diferenças antigênicas. Os HPIV-1, -2 e -3 são patógenos respiratórios importantes e são as principais causas de crupe, bronquiolite e pneumonia em bebês e crianças pequenas. Eles foram estimados como a causa de 40% das doenças agudas do trato respiratório em crianças das quais um vírus é recuperável e 20% das doenças respiratórias em crianças hospitalizadas. O HPIV-4 tem sido tradicionalmente associado a infecções leves do trato respiratório superior em crianças e adultos.

O diagnóstico etiológico de infecções por HPIV não pode ser baseado exclusivamente em sinais e sintomas clínicos porque outros patógenos causam síndromes semelhantes. O uso de métodos diagnósticos clássicos, como isolamento viral e sorologia, pode resultar em atrasos de várias semanas antes que os resultados dos testes estejam disponíveis. O diagnóstico rápido é desejável tanto para auxiliar o clínico na tomada de decisões terapêuticas quanto para prevenir infecções nosocomiais baseia-se em técnicas moleculares de transcrição reversa (RT)-PCR o que constitui uma abordagem para diagnóstico rápido com esperada alta sensibilidade.

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
Vírus da Parainfluenza 1	Gene HN	100	100%	98,3%
Vírus da Parainfluenza 2	Gene HN	1.000	100%	99,5%
Vírus da Parainfluenza 3	Gene HN	1.000	100%	100%

Observações: Resultados obtidos na comparação com o ensaio RespiFinder-2Smart (PathoFinder)

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

Detecção baseado em Tecnologia do PCR em tempo real (RT-PCR). Os vírus são detectados com primers de sonda Taqman da Thermo Fisher®. Os ensaios moleculares multiplex, que dependem da detecção 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 oncológica 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.

