

TRICHOMONAS VAGINALIS PCR [cód. 11128]

INFORMAÇÕES GERAIS

NOME DO EXAME

Trichomonas vaginalis, detecção, PCR

OUTROS NOMES DO EXAME

PCR para *Trichomonas vaginalis*; Teste molecular para *Trichomonas vaginalis*; Pesquisa de *Trichomonas vaginalis* por PCR em secreção vaginal; Teste molecular para *Trichomonas vaginalis* em secreção vaginal; PCR para *Trichomonas vaginalis* em secreção vaginal.

DESCRIÇÃO

Trichomonas vaginalis é um protozoário com tamanho e forma variáveis que possui cinco flagelos, um núcleo grande e um citoplasma com muitos grânulos. O genoma de *T. vaginalis* tem 160Mb divididos em seis cromossomos, sendo que cerca de 65% deste genoma é composto por repetições e elementos transponíveis. Isto sugere expansão recente por meio de eventos de duplicação em larga escala.

T. vaginalis causa uma infecção sexualmente transmissível (IST) conhecida como tricomoníase caracterizada, em mulheres, por corrimento vaginal com odor fétido, prurido genital e dor ao urinar. Em homens, a infecção por *T. vaginalis* frequentemente não apresenta sintomas.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência global da infecção por *T. vaginalis* é estimada em cerca de 5,3% em mulheres e 0,6% em homens. As maiores taxas são observadas na região africana, seguida pela região das Américas. No Brasil, estudos mostram que a prevalência desta infecção varia de 2,6% a 20% em mulheres avaliadas em unidades básicas de saúde de diferentes regiões do país.

Os principais fatores de risco para infecção por *T. vaginalis* incluem:

- Número de parceiros sexuais. Quanto mais parceiros sexuais, maior a probabilidade de contrair *T. vaginalis*.
- Sexo sem proteção. Não usar ou usar de forma incorreta o preservativo.
- Histórico de IST. Indivíduos com histórico de IST apresentam maior probabilidade de infecção por *T. vaginalis*.
- Status socioeconômico. Ter um status socioeconômico mais baixo está associado a maiores taxas de infecção.
- Educação. Mulheres que não concluíram o ensino fundamental têm maior probabilidade de serem infectadas.

Os sintomas da infecção por *T. vaginalis* em mulheres incluem: Prurido, ardor, vermelhidão ou dor nos genitais; desconforto ao urinar; corrimento vaginal claro, branco, amarelado ou esverdeado; prurido na parte interna das coxas; inchaço dos lábios; dor na vulva e no períneo; pontilhas vermelhas e pontuais em forma de "morango" nas paredes vaginais e no colo do útero. Em homens, os sintomas incluem: corrimento transitório, espumoso ou purulento; irritação uretral mínima; umidade ocasional no meato uretral, sob o prepúcio ou ambos; disúria, geralmente no início da manhã. Contudo, a maioria das pessoas com infecção por *T. vaginalis* são assintomáticas, mas continuam capaz de transmitir o protozoário através do contato sexual. Logo, é importante a pesquisa de *T. vaginalis* mesmo em mulheres assintomáticas.

Os principais métodos para detectar *T. vaginalis* são microscopia de montagem úmida (observação do parasita diretamente sob um microscópio em uma solução salina), técnicas de cultura (cultivo do parasita em um ambiente de laboratório) e metodologias moleculares, principalmente PCR e qPCR. Estes métodos moleculares são considerados mais sensíveis e, conseqüentemente, os preferidos para este

diagnóstico, especialmente em casos assintomáticos.

UTILIDADE DO EXAME

Este teste deve ser solicitado pelo médico e visa:

- Identificar de forma rápida, sensível e específica infecções por *Trichomonas vaginalis* em amostras de secreção cérvico-vaginal
- Excluir a infecção por *Trichomonas vaginalis* de pacientes com sintomas de IST.
- Identificar portadores assintomáticos

NECESSIDADE DE PEDIDO MÉDICO

O pedido médico deve ser enviado juntamente com a amostra.

COBERTURA OPERADORA PLANO DE SAÚDE

Não. O exame para *Trichomonas vaginalis* por PCR não é coberto pelas operadoras.

NECESSIDADE DE CONSENTIMENTO

Não.

PREPARAÇÃO DA PACIENTE

Alguns cuidados são necessários a fim de garantir a qualidade deste exame. Estes cuidados incluem não utilizar creme e/ou óvulo vaginal; não utilizar ducha ou fazer lavagem interna; não realizar exame ginecológico com toque e/ou ultrassonografia transvaginal; não manter relações sexuais, com ou sem uso de preservativos. De preferência, não realizar este exame durante a menstruação.

AMOSTRA

AMOSTRA

Secreção cérvico-vaginal (Preferível) (outras amostras, contatar a Genoa/LPCM).

INSTRUÇÕES DE COLETA E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA

A Genoa/LPCM fornece o “kit de coleta” necessário para a coleta da amostra cérvico-vaginal. Este kit contém:

- Frasco com líquido conservante¹
- Escovinha cervical
- Espátula
- Espéculo siliconado²
- Envelope/pedido médico

A coleta da secreção cérvico-vaginal deve ser realizada durante o exame ginecológico em um ambiente de assistência médica. Este kit não deve ser utilizado para autocoleta.

Procedimentos anterior à coleta:

- Abrir um kit fornecido e remover todos os itens contidos no mesmo.
- Preencher o envelope/pedido médico com as informações solicitadas. Não esquecer de assinar e carimbar o pedido médico.

- Remover uma das etiquetas contidas no envelope/pedido preenchido e fixar no frasco com líquido conservante. O código contido na etiqueta é idêntico ao impresso no envelope/pedido.

Coleta da amostra:

- Remover a tampa do frasco cuidadosamente para evitar derramamento do líquido.
- Colher a amostra da secreção cérvico-vaginal com auxílio da escovinha cervical e espátula siliconada.
- Inserir a escovinha no líquido conservante e lavá-la sob vigorosa agitação mecânica a fim de liberar as células.
- Remover a escovinha do frasco e a descartar.
- Fechar firmemente o frasco a fim de evitar vazamento.
- Colocar o frasco dentro de envelope/pedido. Para fechar o envelope, basta retirar a fita protetora da cola e dobrar a aba até que entre em contato com o envelope.

O envelope contendo o frasco deve ser armazenado a temperatura ambiente até a sua retirada ou o seu envio.

(1) A solução conservante contém metanol em sua formulação. Evite contato com os olhos e/ou pele.

(2) A adição de outros lubrificantes deve ser evitada visto que pode interferir nas reações enzimáticas necessárias para a amplificação dos fragmentos de DNA de interesse.

ESTABILIDADE DA AMOSTRA

As células colhidas e armazenadas no líquido conservante são estáveis à temperatura ambiente por até 42 dias.

VOLUME MÍNIMO DA AMOSTRA

O frasco fornecido contém 18 ml de solução conservante e pode ser utilizado para análise citológica e pesquisa de agentes infecciosos, incluindo *Trichomonas vaginalis*.

RETENÇÃO DA AMOSTRA

O tempo de retenção da amostra pelo laboratório é de 90 dias.

METODOLOGIA

DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA

O DNA da *Trichomonas vaginalis* é detectado por PCR utilizando-se primers específicos que anelam ao DNA do protozoário. Primers adicionais para fragmentos de DNA humanos são adicionados como um controle interno para monitorar todo o processo de preparação da amostra e amplificação por PCR.

ESPECIFICIDADE

O fragmento de DNA amplificado pelo par de primers utilizado é sequenciado e a sequência nucleotídica comparada com as sequências referências de *Trichomonas vaginalis*. Todas as sequências obtidas confirmaram os resultados esperados. Logo, as especificidades foram de 100% para os dois pares de primers utilizados.

SENSIBILIDADE

A sensibilidade do protocolo é elevada (>95%).

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA

RESULTADO E INTERPRETAÇÃO

O resultado é apresentado de forma simples e objetiva, a fim de facilitar sua compreensão. Contudo, a interpretação deste resultado é um ato médico e deve ser realizada levando-se em consideração os dados clínicos e demais exames do paciente.

Os três resultados possíveis e suas interpretações estão apresentados a seguir.

- **DETECTADO³**. Este resultado indica que *Trichomonas vaginalis* é detectada na amostra analisada.
- **NÃO DETECTADO³**. Este resultado indica que *Trichomonas vaginalis* está ausente ou abaixo do limite de detecção do método na amostra analisada.
- **CELULARIDADE ABAIXO DO DETECTÁVEL**. Este resultado indica que não é possível obter DNA com a qualidade e/ou em quantidade necessárias para a realização do exame. Alternativamente, inibidores de reação (por exemplo, lubrificantes) podem estar presentes e interferir nas reações enzimática, impedindo a realização do exame.

(3) Para um diagnóstico mais preciso de *T. vaginalis*, recomendamos a análise citológica (Citologia em Base Líquida) que deve ser realizada no mesmo espécime utilizado para o exame de *Trichomonas vaginalis* por PCR.

DISPONIBILIDADE DO LAUDO (TAT)

O laudo estará disponível 3 a 5 dias úteis após a autorização do exame.

VALORES DE REFERÊNCIA

O valor de referência para este exame é **NÃO DETECTADO**.

PRECAUÇÕES

Fatores como coleta inadequada da amostra, tipo de amostra biológica, tempo decorrido entre a coleta e o início dos sintomas e oscilação da quantidade da bactéria podem influenciar no resultado do exame. Variações nas sequências dos DNA dos agentes infecciosos onde se anelam os primers podem gerar resultados falso-negativos. Havendo discordância entre o resultado do teste e o quadro clínico do paciente, aconselha-se que o exame seja repetido em outra amostra.

NOTAS

Este exame é desenvolvido e validado nos laboratórios da Genoa/LPCM.

OBSERVAÇÕES

A Encondexa está comprometida em manter a confidencialidade das informações dos pacientes. Volume Mínimo (quantidade de espécime necessária para realizar um ensaio uma vez).

Recepção do volume mínimo torna impossível repetir o teste ou realizar testes de confirmação. Em algumas situações, um volume mínimo do espécime pode resultar em quantidade não suficiente, exigindo que um segundo espécime seja coletado).

Informe se o caso envolve “Resultados Semi-Urgentes” definidos como resultados relacionados a doenças infecciosas prontamente necessários para evitar consequências de saúde potencialmente sérias para o paciente.

Teste URGENTE: em raras circunstâncias, o teste URGENTE do laboratório de referência pode ser necessário para pacientes que precisam de tratamento imediato. Para agendar o teste URGENTE, peça ao patologista, médico ou gestor de laboratório ou Representante para ligar para a Encodexa® e uma vez acordado que há necessidade da categoria de teste URGENTE, serão feitos arranjos para atribuir recursos para executar o teste em uma base URGENTE quando a amostra for recebida.

A Encodexa® usa no mínimo dois identificadores específicos do paciente para verificar se o paciente correto é correspondido com o espécime correto e o pedido correto para serviços de teste. Conforme um espécime é recebido na ENCODEXA, o nome e sobrenome do paciente, data de nascimento, número do prontuário médico e número de acesso do cliente são verificados comparando os rótulos no tubo ou recipiente do espécime com o pedido eletrônico e qualquer papelada (folha de lote ou formulário) que possa acompanhar o espécime a ser testado. Quando discrepâncias são identificadas, o Centro de Atendimento de Consultas da Encodexa telefonará para o cliente para verificar as informações discrepantes para garantir que a Encodexa® esteja realizando o teste correto para o paciente correto. Os espécimes são considerados rotulados incorretamente quando há uma incompatibilidade entre os identificadores específicos da pessoa no espécime e as informações que acompanham o espécime. Quando identificação insuficiente ou inconsistente for enviada, a Encodexa® recomendará que um novo espécime seja obtido.

Prazo dos exames (TAT) O extenso menu de testes do Encodexa® reflete as necessidades de nossa própria prática de assistência médica. Estamos comprometidos em fornecer o TAT mais rápido possível para melhorar o diagnóstico e o tratamento. Consideramos os serviços laboratoriais como parte do continuum de atendimento ao paciente, em que as necessidades do paciente são primordiais. Nesse contexto, nos esforçamos para cumprir nossas obrigações de serviço. Nosso histórico de serviço e nossas métricas de qualidade documentarão nossa capacidade de entregar em todas as áreas de serviço, incluindo TAT. A Encodexa® define TAT como o tempo de teste analítico (o tempo do qual uma amostra é recebida no local de teste até o momento do resultado) necessário e é listado para cada teste como "Relatório disponível". O TAT é monitorado continuamente por cada local de laboratório em execução dentro da Encodexa®.

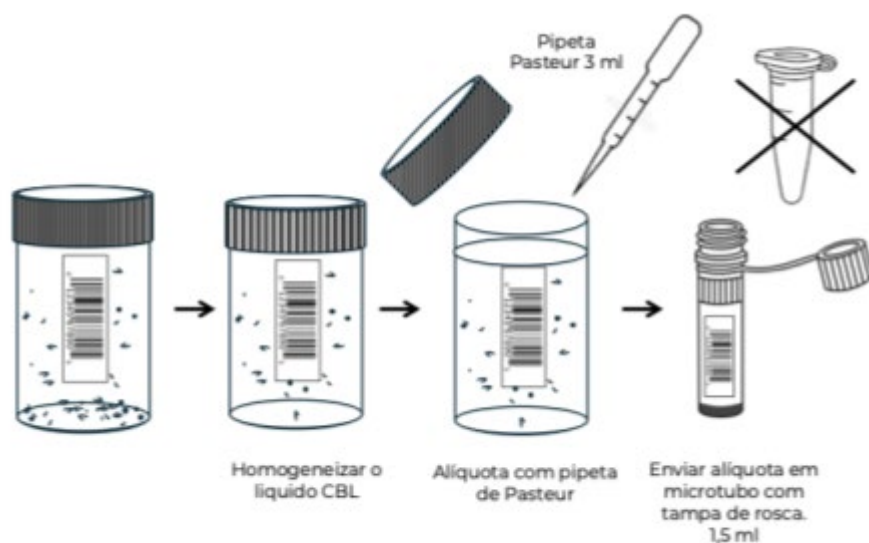
Aliquotagem de amostras para exames moleculares

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

Para que nenhuma informação seja perdida nesse processo, o laboratório deve manter um controle de alíquotas e, em um primeiro momento, o técnico identifica o microtubo que receberá a alíquota e, ao mesmo tempo, a registra no sistema. A alíquota deve ser realizada por um técnico de laboratório familiarizado com os objetivos 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 onde, ao invés de raspagens na lâmina, as células são coletadas e suspensas em um líquido preservante com metanol, que é tóxico, requerendo uso de luvas.

O líquido da CBL pode conter células livres, debris, células inflamatórias, hemácias, bactérias, vírus, fungos, protozoários, DNA livre, espermatozoides, fibrina, resíduos de cremes, outras substâncias usadas na lavagem vaginal, e mais. Essas partículas estão parcialmente livres no líquido ou sedimentadas no fundo, e o exame de Patologia Molecular busca extrair todo o DNA e RNA presentes na amostra.



O técnico deve homogeneizar a amostra para que tudo seja representado, submetendo-a a forte agitação motora. Em seguida, transferir 1,5 ml desse líquido usando uma pipeta de Pasteur para o microtubo e descartá-lo. Usar um microtubo com tampa de rosca (Kasvi é recomendado) e nunca um microtubo de fechamento por pressão, pois este pode abrir espontaneamente no traslado ao laboratório. Lembre-se: se aliquotar mais do que o necessário (CBL originalmente contém 18 ml de preservante), pode-se interferir no processamento automático da citologia por pouco líquido. Nestes casos, o técnico deverá repor o volume com líquido preservante ou, na falta deste, com álcool 70%.

Medidas para aliquotagem abaixo. Dica: se enviar ≥ 4 ml, utilize um tubo Falcon (ou similar) de 15 ml, como na figura ao lado.

- PCR para HPV - 2 ml
- PCR para Painel Ginecológico - 2 ml
- PCR para HPV e Painel Ginecológico - 2 ml
- Captura Híbrida HPV - 4 ml
- Captura para HPV + PCR para HPV - 6 ml
- Captura para HPV + PCR para painel ginecológico - 6 ml
- Captura para HPV + PCR para HPV e painel ginecológico - 6 ml.



