



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Comparação da Imunofluorescência Direta (IFD) e da reação em cadeia da polimerase na detecção do metapneumovírus humano (hMPV) em pacientes com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG)
<b>Autor</b>	JONAS MICHEL WOLF
<b>Orientador</b>	NILO IKUTA
<b>Instituição</b>	Universidade Luterana do Brasil

A Infecção Respiratória Aguda (IRA) representa um dos maiores problemas de saúde pública mundial devido a sua ampla distribuição, facilidade de disseminação, elevada morbidade e mortalidade. A síndrome respiratória aguda grave (SRAG) é um conglomerado de sinais e sintomas clínicos, característicos de pacientes portadores de IRA. No Estado do Rio Grande do Sul até o ano de 2009, os principais agentes virais respiratórios causadores de síndrome gripal eram monitorados pelo Laboratório Central (LACEN/RS) por imunofluorescência indireta (IFI) (vírus Influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3, Adenovírus, Vírus Sincicial Respiratório Humano - hVRS). A partir de 2009 iniciou-se a vigilância de SRAG por PCR em tempo real para detecção de Influenza A e B, com tipificação de Influenza A/H1N1 pdm09 e H3. Mais recentemente, tem se dado uma especial atenção ao metapneumovírus humano (hMPV), um patógeno relacionado com infecções respiratórias que causa grande mortalidade em crianças (< 5 anos de idade), bem como o agravamento do prognóstico devido a co-infecção com outros agentes virais. Por ser um vírus ubíquo, suspeita-se que o mesmo pode estar relacionado com os vários casos de SRAG onde não foi possível identificar o agente causal. Os métodos laboratoriais para o diagnóstico do hMPV incluem o isolamento, detecção do antígeno viral e amplificação de ácidos nucleicos, sendo a PCR em tempo real considerada como teste referência para detecção de hMPV. O presente estudo visa avaliar potenciais técnicas para detecção do hMPV que possam ser incorporadas no LACEN-RS. Os objetivos específicos do presente estudo são de (i) verificar a eficiência da IFD para detecção do hMPV; (ii) caracterizar a presença do hMPV em amostras de pacientes onde não foram detectados os principais agentes virais nos anos de 2009 e 2011; (iii) comparar a especificidade e sensibilidade entre os ensaios de IFD com o padrão de referência PCR em tempo real. Foi avaliado um total de 328 amostras de pacientes com SRAG encaminhadas para o LACEN-RS entre os anos de 2009 e 2011. As amostras consistiram de aspirado de nasofaringe, onde previamente a presença dos vírus Influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3, Adenovírus e hVRS não foram confirmadas. O ensaio de IFD para detecção do hMPV foi realizado conforme protocolo do fabricante (Millipore - Human Metapneumovirus DFA Reagent, RUO - Código 5091RU0), e as condições de detecção por PCR em tempo real, conforme protocolo do CDC Atlanta (Invitrogen - Mastermix qRT-PCR One-Step com SuperScript™ III e Taq Platinum® - Código 11732-088). A PCR em tempo real identificou o hMPV em 58 amostras de pacientes (17,7%) nos 3 anos pesquisados. A análise comparativa de IFD e o teste de referência (PCR em tempo real) demonstrou uma taxa alta de concordância (86%) e especificidade (98,5%), o que resulta em baixo número de falsos positivos. A grande limitação encontrada na técnica de IFD foi sua baixa sensibilidade (27,6%), o que implica em um grande número de falsos negativos. Análise de custos por ensaio demonstra que os valores dos insumos (aproximadamente R\$ 15,00) não são muito discrepantes entre as duas técnicas, o que não justifica a introdução da IFD num laboratório onde já existe uma infraestrutura própria para realização da PCR em tempo real. Além disto, um mesmo RNA purificado para detecção de vírus de gripe pode ser utilizado na detecção de hMPV, o que agilizaria o processo e com redução de custos. O presente estudo comprova que o hMPV tem circulado consistentemente no Estado, sendo um dos patógenos relacionados com SRAG. Além disto, caracterizou o teste de IFD como específico, mas de baixa sensibilidade quando comparada com a PCR em tempo real no diagnóstico de hMPV, e que a introdução destas técnicas poderão auxiliar no diagnóstico e monitoramento de SRAG.