

## Infecção pelo Citomegalovírus:

*uma questão de tempo e precisão.*

Métodos laboratoriais que permitam a rápida detecção do Citomegalovírus (CMV) são fundamentais em pacientes imunocomprometidos.

Além da rápida detecção, estes métodos têm de ser preditivos da doença causada por este agente. Os pacientes imunocomprometidos, como os indivíduos que se submeteram a transplante, estão em risco de desenvolvimento de doença pelo CMV, que pode ser primária ou secundária.

O foco do diagnóstico é a identificação precoce deste agente no sangue, uma vez que a doença clínica coincide com a viremia.

Para o rápido diagnóstico, a sorologia ou o isolamento do CMV em cultura não são uma alternativa.

Estes métodos geralmente apresentam resultados conclusivamente positivos ao mesmo tempo ou depois das manifestações clínicas o que dificulta e até torna impossível, a utilização de medida terapêutica preempitiva.

Os pacientes que se submetem a transplantes são submetidos a exames periódicos de vigilância para a detecção precoce da infecção ativa, ou replicação do

CMV, com o intuito de prevenir as conseqüências e permitir o rápido diagnóstico da infecção sintomática por este agente (febre, plaquetopenia, leucopenia, encefalite, ulcerações em tubo digestivo, entre outras manifestações).

A combinação de estudo da Antigenemia e da quantificação do DNA do CMV ou "DNAemia" podem contribuir para um melhor manejo destes pacientes.

**Antigenemia para CMV: o estudo da expressão do antígeno pp65 em leucócitos.**

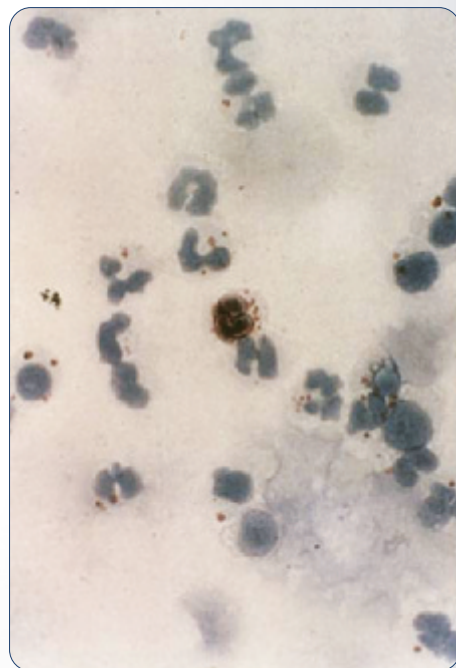
A partir de uma amostra de sangue total, após etapas de centrifugações e citocentrifugações, os leucócitos são separados e espalhados harmonicamente em uma lâmina de vidro.

Após incubação com anticorpos direcionados contra a proteína ppUL83 ( a menor proteína da Matrix do antígeno pp65) a presença do antígeno é revelado ao aumento de 200 ou 400 x do microscópio óptico após a reação com um anticorpo de revelação.

Um valor quantitativo é obtido pela relação de granulócitos corados (núcleos de cor marrom) em relação ao número de polimorfonucleares (PMN) obtidos na lâmina (geralmente por 200.000 PNM).

**PCR em Tempo Real: Maior sensibilidade e reprodutibilidade, menor tempo de execução, mais adequado a sistematização e automação.**

A utilização da técnica de PCR em Tempo Real apresenta maior sensibilidade quando comparado a outras técnicas moleculares além de uma especificidade teórica significativa que é inerente ao método (utilização de iniciadores ou primers que flanqueiam a região conservada do genoma do agente pesquisado além de uma sonda ou probe de detecção).



**Antigenemia:** o estudo requer um técnico altamente especializado, amostras frescas e pode ser de difícil interpretação em pacientes com contagem leucocitária baixa (Ex: Após transplante de medula óssea ou mesmo como conseqüência da infecção sintomática pelo CMV).

Outra vantagem é a possibilidade de obtenção de quantificação direta, mediante a utilização de uma curva de diluição de soluções contendo quantidades conhecidas de DNA do agente de interesse.

Durante o acompanhamento periódico de populações de risco para infecção ativa de CMV, a taxa de positividade do ensaio de PCR em Tempo Real é mais elevada que a do ensaio da Antigenemia. O que torna evidente a maior sensibilidade do ensaio molecular. Outro fato interessante é que níveis mais elevados de cópias de DNA do CMV por ml de plasma foram mais elevados em pacientes que apresentavam detecção do antígeno pp65, mostrando uma correlação entre estes dois testes.

De uma maneira geral o nível de cópias de DNA do CMV se correlaciona com o a população estudada, sendo que os maiores níveis de “carga viral do CMV” são encontrados nos transplantados renais.

Ao longo do seguimento dos pacientes em risco para o desenvolvimento da doença sintomática, uma alta carga viral no exame inicial se correlaciona positivamente com o aparecimento da doença sintomática, e pode, eventualmente, preceder a detecção do antígeno pp65. Ambos os parâmetros, de Antigenemia e Carga Viral, precedem em semanas o aparecimento da doença sintomática. No entanto os níveis de pp65 são bem discrepantes entre os pacientes sintomáticos e assintomáticos, ao passo que os níveis de “DNAemia” não são tão distintos entre estes dois grupos.

De uma maneira geral os níveis de Antigenemia obtidos pelo número de granulócitos marcados, em consequência da presença da pp65, em relação aos polimorfonucleares não marcados, constituem no parâmetro que melhor se correlaciona qualitativamente e quantitativamente com o desenvolvimento das manifestações clínicas da infecção pelo CMV, embora seja um ensaio menos sensível.

No entanto dificuldades técnicas, como a necessidade de amostras frescas e de volume de amostra elevado, interpretação subjetiva, e tempo para o término de análise prolongado, do ensaio de Antigenemia, sugerem a necessidade de explorarmos melhor o potencial do PCR em Tempo Real nesse cenário.

Para tanto, estudos mais extensos nas diferentes populações de risco (transplantados de órgãos sólidos; receptores de medula óssea ou células tronco; portadores de neoplasias hematológicas; e pacientes HIV positivos) devem ser conduzidos, levando-se em conta o tipo de ensaio em Tempo Real utilizado (tipo de equipamento e tecnologia de primers e probes específicos), para obtenção dos cut-offs que se correlacionam com a detecção de níveis significativos de pp65 em cada população.

De uma maneira geral, os médicos que assistem aos pacientes destes grupos seletos, podem utilizar as duas informações diagnósticas da maneira conjunta em favor de uma melhor assistência, uma vez que nenhum destes exames apresenta, sozinho, sensibilidade e especificidade suficientes para prever quais os pacientes que desenvolverão as manifestações clínicas em todos os casos. Outro fato importante é a utilização, em longo prazo, de um mesmo serviço de referência que realize o exame molecular. Ao solicitar os exames para os mesmos pacientes no mesmo laboratório, os médicos eliminam os fatores de interferência devido a características pré-analíticas e, principalmente, a características analíticas (por exemplo, um serviço pode utilizar um equipamento específico assim como sondas e probes característicos em sua metodologia desenvolvida “in house”). Desta forma, apesar da lacuna deixada pela ausência de Cut-offs consagrados, a experiência adquirida evita surpresas na interpretação conjunta da Antigenemia e “DNAemia” do CMV.

[WWW.CENTRODEGENOMAS.COM.BR](http://WWW.CENTRODEGENOMAS.COM.BR) - TEL. 11 5079 9593

**NTO:** R. Leandro Dupré, 967 - VI. Clementino - São Paulo / SP.

**ADM:** R. Afonso Celso, 469 - VI. Mariana - São Paulo / SP.

Todas as edições estão disponíveis para consulta e impressão no [www.cartamolecular.com.br](http://www.cartamolecular.com.br)

Autor: Dr. Luis Gustavo - Editoração: Natasha Vilhena - Produção: Aldeia Brasil

Certificações:

