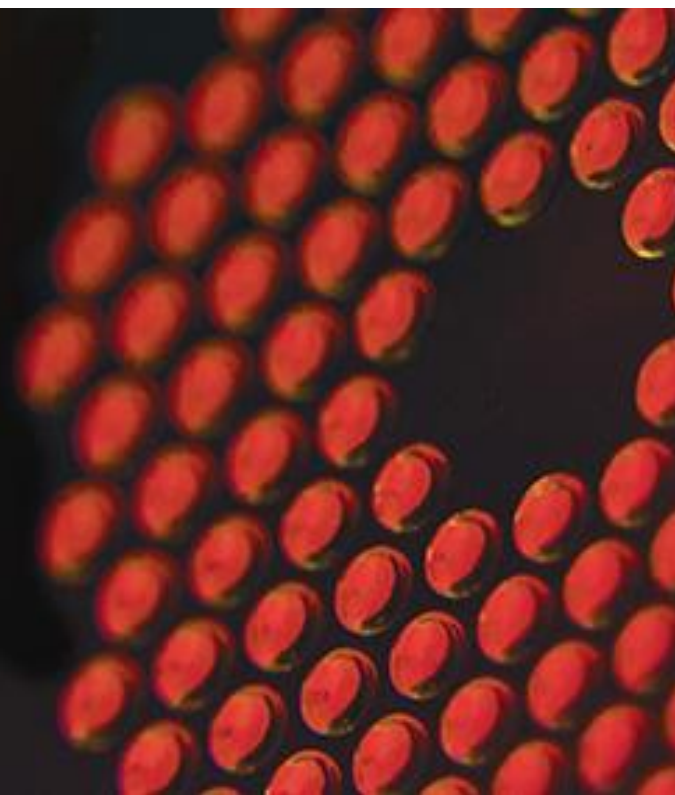


Obrigada por ver esta apresentação
Gostaríamos de recordar-lhe que esta
apresentação é propriedade do autor.

É-lhe fornecida pela Sociedade Portuguesa
de Pediatria no contexto do 16º
Congresso Nacional de Pediatria, para
seu uso pessoal, tal como submetido pelo
autor

© 2015 pelo autor

LABORATÓRIO EM DOENÇAS INFECCIOSAS NA URGÊNCIA: avanços e exigências nos critérios de diagnóstico



Maria Joao Rocha Brito. Unidade de Infecçciologia. Hospital Dona Estefânia. CHLC

FDA OKs Multipathogen Nucleic Acid Test for CNS Infections

October 08, 2015

- The US FDA) today approved the first nucleic acid-based test of cerebrospinal fluid (CSF) that can simultaneously detect **14 pathogens** responsible for central nervous system infections.
- The ***FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel (BioFire Diagnostics)***. The test can yield results in about **60 minutes**. In contrast, it may take up to 3 days to identify a bacterial infection using current diagnostic technology. The wait time for viral infections can be longer, given that specimens often must be shipped to specialized laboratories.
- The quicker turnaround with the FilmArray ME Panel, the agency said, "**may enable clinicians to make informed treatment decisions earlier.**"

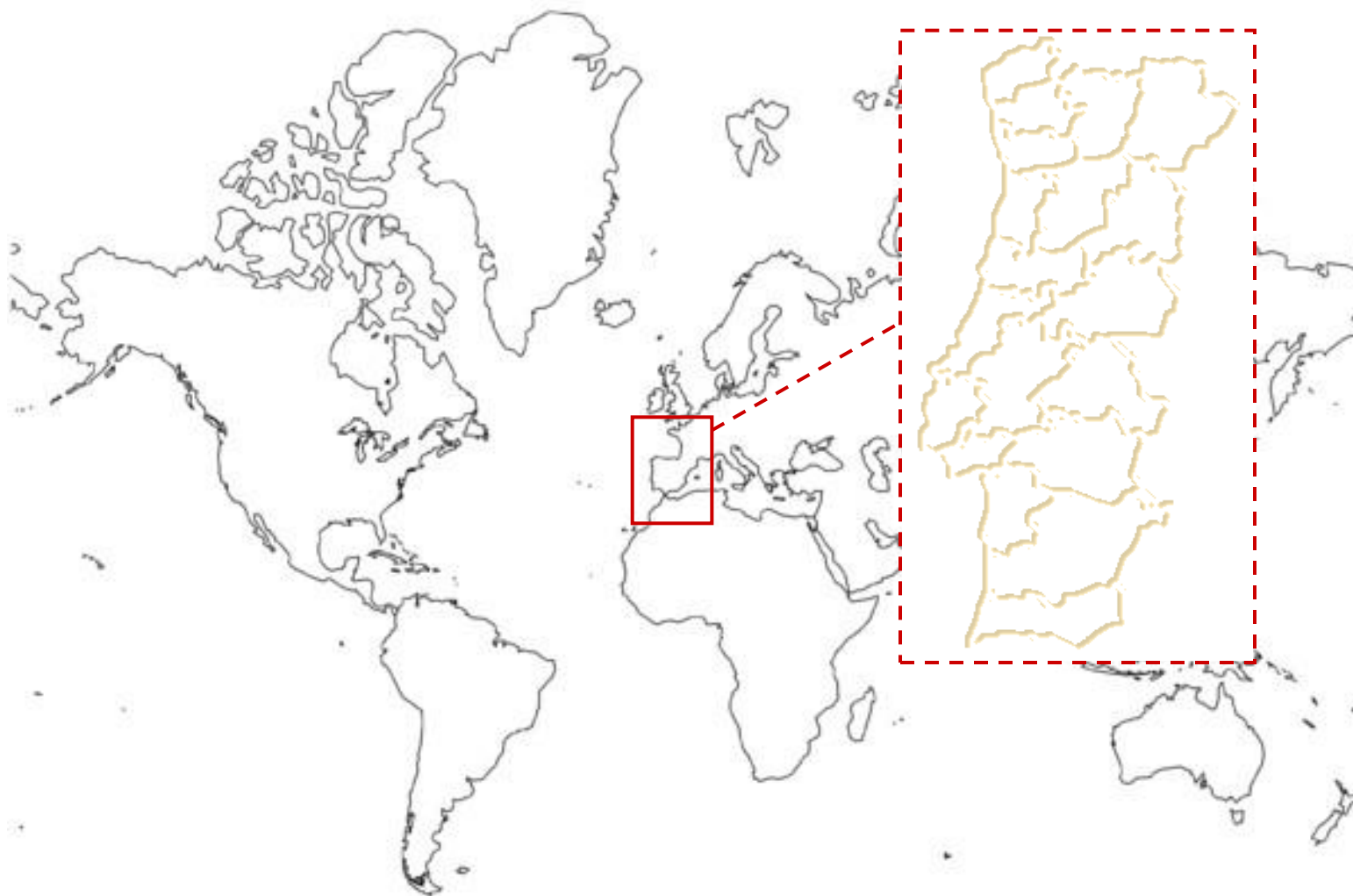
DON'T GUESS.



KNOW.



Laboratório em doenças infecciosas.. em Portugal



DON'T GUESS.



KNOW.



Laboratório em doenças infecciosas..

Avanços e exigências nos critérios de diagnóstico



Laboratório em doenças infecciosas..

Avanços e exigências nos critérios de diagnóstico



Diagnóstico de doenças infecciosas.. Que exames laboratoriais?



The fastest way to
catch a killer.

Infecções Respiratórias



Infecções respiratórias

Quando pedir exames laboratoriais?

- Casos atípicos
- Gravidade clínica
- Suspeita de infecções importadas
- Estudos epidemiológicos
- Prevenção de infecção nosocomial

Laboratório em infecções respiratórias..

SECREÇÕES

- Testes de antígenos
- Testes moleculares - PCR
- Outros

SANGUE

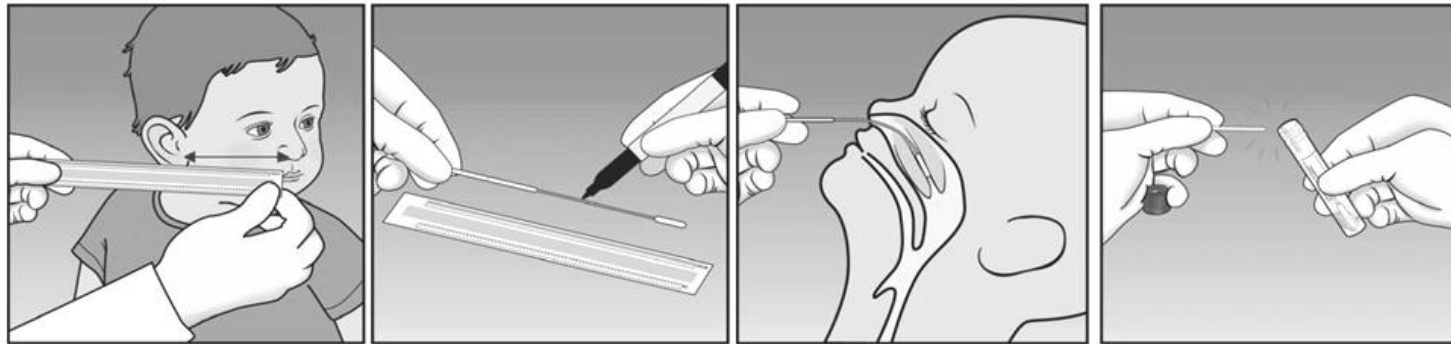
- Exames culturais
- Serologias

OUTROS

Laboratório em infecções respiratórias

SECREÇÕES

Nasopharyngeal Specimen Collection Instructions

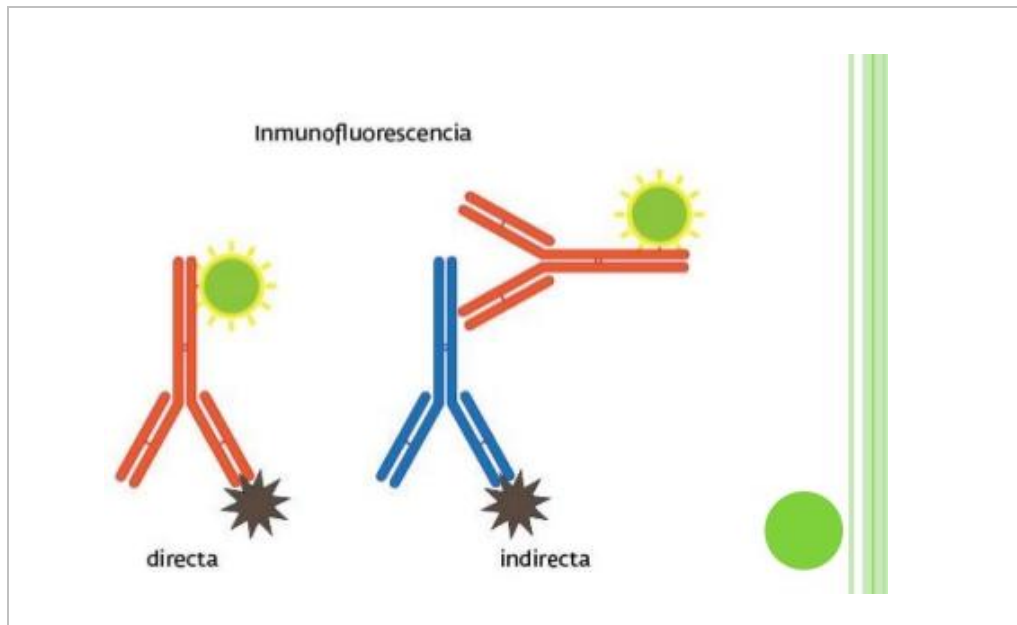


Dia de Colheita/Doença? Condições de colheita/Amostra ideal?
Acondicionamento adequado? Transporte rápido e eficaz?

Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Testes com antígenos

- Imunofluorescência directa e indirecta (IFD/IFI)
- Testes rápidos por imunoensaio (EIA)



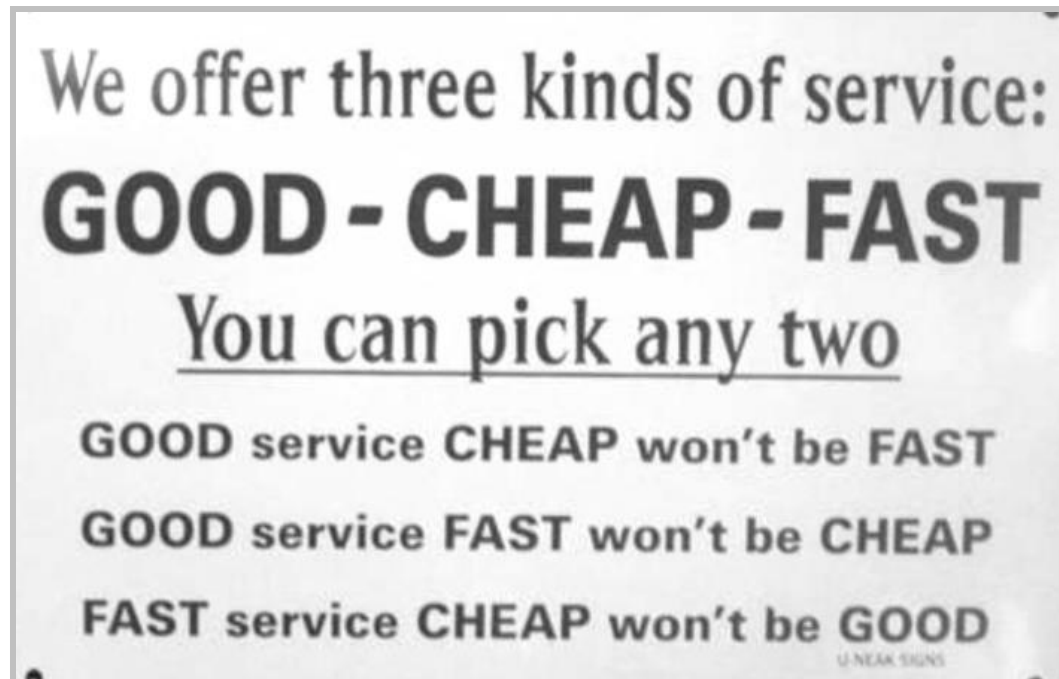
Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Testes com antígenos

- *VSR, Parainfluenza 1,2,3, Influenza A e B, Adenovirus*
- *Metapneumovirus*
- *VSR*
- *Adenovirus*
- *.....*
- **Baratos. Rápidos. Disponíveis na maioria dos laboratórios**

Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Testes com antigénios????



Laboratório em infecções respiratórias

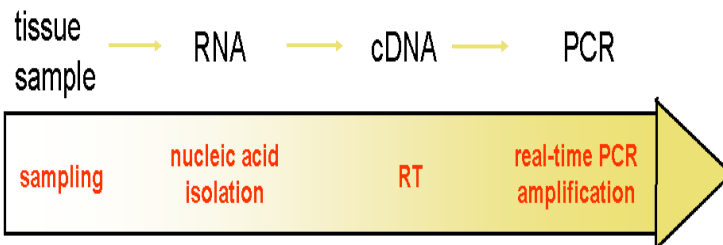
Secreções - Testes com antígenos

- *VSR, Parainfluenza 1,2,3, Influenza A e B, Adenovirus*
- *Metapneumovirus*
- *VSR*
- *Adenovirus*
- *.....*
- Baratos. Rápidos. Disponíveis na maioria dos laboratórios
- **LIMITAÇÕES** (especificidade e sensibilidade vs dia colheita, tipo de vírus ex: influenza, número de agentes identificados..)

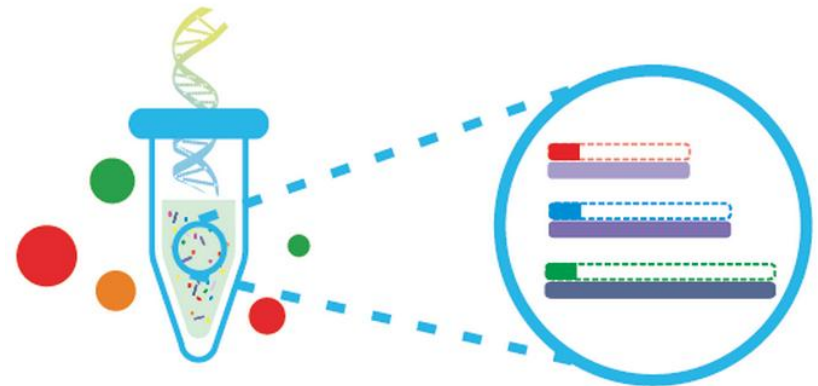
Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Testes moleculares - PCR

Real Time (RT) PCR



Multiplex PCR



Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Testes moleculares - PCR

- GOLD STANDARD
- Sensibilidade e especificidade elevadas
- Rápidos
- Caros
- Não disponíveis na maioria dos laboratórios (ainda..)

Secreções - PCR Multiplex

Pathogens	Name	Subtypes	FTD assay
Virus	Adenovirus	B,D,F,8,9,10,13,15,17,19,20,21,21a,22,23,24,25,26,27,28,29,30,32,33,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,51,53,54,56,58,60a,62,63,64,65,67,69,71	FTD-2
Virus	Bocavirus	1,2,3	FTD-2
Virus	Coronavirus 229E	229E	FTD-2
Virus	Coronavirus HKU1	HKU1	FTD-2
Virus	Coronavirus NL63	NL63	FTD-2
Virus	Coronavirus OC43	OC43	FTD-2
Virus	Enterovirus	coxsackievirus A1,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,24; B1,2,3,4,5,6 echovirus 1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,24,25,26,27,29,30,31,32,33 enterovirus 68,69,70,71,73,74,75,76,77,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,94,96, 97,98,99,100,101,102,106,107,113,116, 122,123;A,A119,A123,A76;B,111,73,75,818793;C,C96,99;D68;E,F,G,H,J,J121 rhinovirus 13,27,43,45,51,71,87,103;A;C,C8,11,35,54 poliovirus 1,2,3,5	FTD-2
Virus	Equine Arteritis Virus (just RNA) (IC)		FTD-2
Virus	Human metapneumo virus A+B	A, B	FTD-2
Virus	Influenza A	H3N2	FTD-2
Virus	Influenza A(H1N1)swl	H1N1	FTD-2
Virus	Influenza B	Victoria- and Yamagata Linie	FTD-2
Bacteria	<i>Mycoplasma Pneumoniae</i>	M129, 549, 684, 2p, P118, P54, P53, P42, P36, P33, FH, 3, 1136, Mp3896, Mp1842, MAC, Mp4817, Mp22	FTD-2
Virus	Parainfluenza 1	1	FTD-2
Virus	Parainfluenza 2	2	FTD-2
Virus	Parainfluenza 3	3	FTD-2
Virus	Parainfluenza 4	4a, 4b	FTD-2
Virus	Par echovirus	1,2,3,4,5,6,7,8	FTD-2
Virus	Respiratory syncytial virus A	A	FTD-2
Virus	Respiratory syncytial virus B	B	FTD-2
Virus	Rhinovirus	2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 14, 16, 37, 39, 42, 45, 52, 54, 72, 90 and 93 among the groups A, B and C.	FTD-2

Custo: 139,3€

Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - PCR Multiplex

- **Diagnóstico de coinfeções**
- **Mas... ainda não é perfeita!!**

Não identifica todos os subtipos

Kits com sensibilidade diminuída para alguns vírus

(ex: VSR, enterovírus, metapneumovírus..)

Identificação de vírus sem patogenicidade elevada (ex: Bocavírus)

Falsos positivos..

Laboratório em infecções respiratórias

Secreções RT - PCR

- **Seguimento de doença grave**
(ex: virus influenza..)
- **Agentes emergentes**
MERS-CoV, Enterovirus 68, SARS-Co ...
- **Agentes específicos**
Mycoplasma pn... Bordetella pertussis??

Laboratório em infecções respiratórias

Secreções - Outros

- **Cultura viral** (excepcional..)
- **Cultura bacteriana ???** (colonização..)
- **Testes rápidos para bactérias?** (portadores assintomaticos)

Laboratório em infecções respiratórias

Sangue

- **Hemocultura**

Suspeita de etiologia bacteriana

Respeitar quantidades de sangue de acordo com o grupo etário

- **Serologias**

(ex: vírus respiratórios se duração da doença > 1S, *Mycoplasma pn*, *Chlamydia pn*..)

Sempre 2 amostras com intervalo de 3 – 4 semanas

Falsos negativos na doença < 5 – 7 dias

Laboratório em infecções respiratórias

Outros

(doença viral vs doença bacteriana)

- Hemograma
- Morfologia do sangue periférico
- PCR

Infecções respiratórias

Diagnóstico laboratorial no
Serviço de Urgência..

Meet the Bugs



ADENOVIRUS
aka
"ANNIE ADENO"



MYCOPLASMA
PNEUMONIAE
aka
"LIL' MICK"



CHLAMYDOPHILA
PNEUMONIAE

Infecções Respiratórias - Diagnóstico na Urgência

Serviço Urgência

**Doença viral/
Doença bacteriana**

**Hemograma
MSPeriferico
PCR**

**Internamento/
Prevenção de infecção
nosocomial**

**PCR Multiplex Virus
Respiratórios**

**(Serologias virais
se doença > 1S)**

Gravidade Clinica

**PCR Multiplex Virus
Respiratórios**

+

Hemocultura

+

**Hemograma
MSPeriferico
PCR**

**Estudos
epidemiologicos**

**Ex: Gripe
Seguir orientações**

**Doença bacteriana
especifica**

**Serologia Micoplasma/
Chlamydia pn**

**Suspeita de doença
importada**

**RT PCR para agente em
causa**

Infecções SNC



Infecções SNC

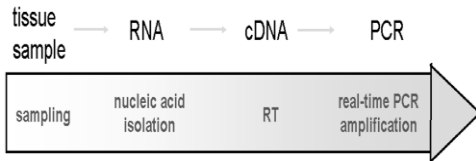
Quando pedir exames laboratoriais?

- Sempre !!

Laboratório em infecções SNC

LCR Testes moleculares - PCR

Real Time (RT) PCR



*Streptococcus
pneumoniae*

Prof Melo Cristino
IMM . Lisboa

*Neisseria
meningitidis*

Dr^a Maria João Simões
INSA. Lisboa

Haemophilus influenza INSA. Staphylococcus aureus IMM. Streptococcus pyogenes IMM

Para o clínico/hospital a PREÇO = 0€!!

Laboratório em infecções SNC

LCR Testes moleculares - PCR

PCR DNA Bacteriano



**DNA bactérias
(16S rDNA)**

fungos (18S rDNA)

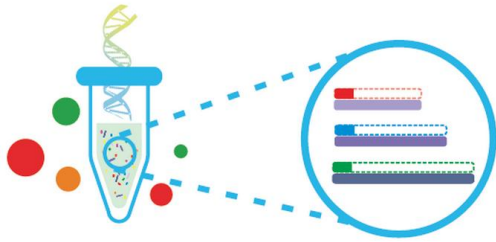
**Microorganismos
difíceis de cultivar**

**Não identificados
por outros meios**

Laboratório em infecções SNC

LCR Testes moleculares - PCR

Multiplex PCR



**Maior utilização
na suspeita de
DOENÇA ETIOLOGIA
VIRAL**

LCR - PCR Multiplex

Pathogens	Name	Subtypes	FTD assay
Virus	Adenovirus	B,D,F,8,9,10,13,15,17,19,20,21,21a,22,23,24,25,26,27,28,29,30,32,33,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,51,53,54,56,58,60a,62,63,64,65,67,69,71	FTD-60
Virus	Cytomegalovirus	strains TR, JHC, Toledo, AF1, U11, VR1814, U8, 3301, HAN20, HAN38, 3157, JP, HAN13, AD169/var UK, AD169, Towne, TB40, Merlin, Iran US7 and US8 genes, FM60, FM62, FM65, FM68, FM71	FTD-60
Virus	Enterovirus	coxsackievirus A1,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,24; B1,2,3,4,5,6 echovirus 1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,24,25,26,27,29,30,31,32,33 enterovirus 68,69,70,71,73,74,75,76,77,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,94,96,97,98,99,100,101,102,106,107,113,116, 122,123;A,A119,A123,A76;B,111,73,75,818793;C,C96,99;D68;E,F,G,H,J,J121 rhinovirus 13,27,43,45,51,71,87,103;A;C,C8,11,35,54 poliovirus 1,2,3,5	FTD-60
Virus	Epstein Barr Virus	strains B95-8, C666-1, Mutu, Akata, HKNPC1, GD1, GD2, AG876	FTD-60
Virus	Herpes simplex virus 1	1	FTD-60
Virus	Herpes simplex virus 2	2	FTD-60
Virus	Human herpes virus 6	A and B	FTD-60
Virus	Human herpes virus 7	7	FTD-60
Virus	Murine Cytomegalovirus (IC)		FTD-60
Virus	Parechovirus	1,2,3,4,5,6,7,8	FTD-60
Virus	Parvovirus B19	B19	FTD-60
Virus	Varicella-zoster virus (HHV3)	HHV3	FTD-60
Virus	Varicella-zoster virus	HHV3	FTD-60

Custo HVirus/Enterovirus: 139,3€

Custo RT PCR para cada virus: 915,5€

Laboratório em infecções SNC

LCR - PCR Multiplex

- **Diagnóstico de coinfeções.. Existem?**
- **Mas... também ainda não é perfeita!!**

Não identifica todos os subtipos dos virus

Kits com sensibilidade diminuida para alguns virus (ex: EV71, EV68)

Identificação de virus com patogenicidade ainda mal esclarecida (ex: HV6)

Falsos positivos..

Laboratório em infecções SNC

LCR - Outros

- **Citoquímico**
- Gram?
- Antígenos capsulares?
- **Antígeno *Cryptococcus***
- Cultura vírus?
- **Serologias, Síntese intratecal... (guardar tubos no laboratório)**

Laboratório em infecções SNC



0873-9781/11/42-6/284
Acta Pediátrica Portuguesa
Sociedade Portuguesa de Pediatria

SOCIEDADE PORTUGUESA DE PEDIATRIA CONSENSOS E RECOMENDAÇÕES

Encefalites - Recomendações da Sociedade de Infecçologia Pediátrica e da Sociedade Portuguesa de Neuropediatria

Requisitar no LCR

Realizar colheitas de LCR para 4 tubos secos e 1 tubo de meio chocolate para:

- Exame citoquímico, gram, antigenos capsulares e exame microbiológico
- PCR para painel de *Herpes vírus* (inclui HVS1, HVS2, Varicela, CMV; EBV; HV6; HV7)
- PCR Enterovirus
- PCR para *Mycoplasma pneumoniae*
- PCR para *Borrelia*
- Imunoelectroforese (enviar com tubo seco com 2 ml de sangue)

Dependendo da clínica e estação do ano, considerar PCR para outros vírus (adenovirus, influenza) ou com a historia epidemiológica e clínica considerar situações mais raras e pedir exame parasitológico e micológico.

Guardar tubo com 1 ml de liquor no laboratório para eventuais estudos posteriores

Processar todos estes pedidos na maioria dos Serviços de Urgência??...

Laboratório em infecções SNC

Sangue

- **Hemocultura**

Suspeita de etiologia bacteriana

Respeitar quantidades de sangue de acordo com o grupo etário

- **Serologias**

Colheita de sangue e LCR ao mesmo tempo

Sempre 2 amostras de sangue com intervalo de 3 – 4 semanas

Falsos negativos na doença < 5 – 7 dias

Laboratório em infecções SNC

Outros

- **PCR Enterovirus nas fezes**
- **Cultura Enterovirus nas fezes**
- **PCR Multiplex nas secreções**
-



The FASTEST WAY TO
CATCH A KILLER

Infecções SNC

**Diagnóstico
laboratorial
no
Serviço de Urgência..**

Infecções SNC - Diagnóstico na Urgência

EXAME CITOQUIMICO DO LCR

Meningite Bacteriana

LCR Cultura
Hemocultura
(PCR Pneumo, Meningo)
(LCR PCR DNA Bacteriano)

Meningite Viral

LCR PCR Enterovirus
(PCR Multiplex VHerpes)
(Sangue serologias virais)
(PCR Enterovirus fezes)

Encefalites

LCR PCR Multiplex Virus
Herpes/Enterovirus
+
LCR e Sangue Serologias
(PCR RT Fezes
PCR Multiplex Secreções)

Outras meningites
Tuberculose
Criptococcose
Outras crônicas..

Estudos epidemiológicos
Ex: DIP

Seguir orientações

Suspeita de doença
importada
RT PCR para agente em
causa

Infecções Gastrointestinais



Infecções gastrointestinais

Quando pedir exames laboratoriais?

- Gravidade clínica, Colites Hemorrágicas, Grupos de Risco..
- Suspeita de infecções importadas
- Estudos epidemiológicos
- Prevenção de infecção nosocomial

Laboratório em infecções gastrointestinais..

FEZES

- **Testes de antígenos**
- **Testes moleculares - PCR**
- **Coproculturas**
- **Exame parasitológico**
- **Ag Giardia**
- **Pesquisa de Clostridium**
- **Outros...**

Laboratório em infecções gastrointestinais

FEZES



**Dia de Colheita/Doença? Condições de colheita/Amostra ideal?
Acondicionamento adequado? Transporte rápido e eficaz?**

Laboratório em infecções gastrointestinais

Fezes - Testes com antígenos

- *Rotavirus, Adenovirus*
- Outros vírus: astrovirus, norovirus, norwalkvirus
- Baratos
- Rápidos
- Sensibilidade e especificidade elevadas..
- Disponíveis na maioria dos laboratórios

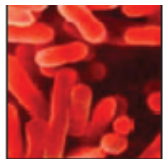
Laboratório em infecções gastrointestinais

Fezes Testes moleculares - PCR

- Diagnóstico de coinfeções (virus, bacterias e parasitas)
- Sensibilidade e especificidade elevadas
- Rápidos
- Caros
- Não disponíveis na maioria dos laboratórios

Laboratório em infecções gastrointestinais

Fezes Testes moleculares - PCR



Bacteria

Campylobacter (jejuni, coli and upsaliensis)

Clostridium difficile (toxin A/B)

Plesiomonas shigelloides

Salmonella

Yersinia enterocolitica

Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus and cholerae)

Vibrio cholerae

Diarrheagenic *E. coli*/Shigella

Enteraggregative *E. coli* (EAEC)

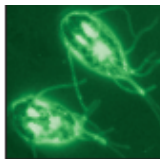
Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) *lt/st*

Shiga-like toxin-producing *E. coli* (STEC) *stx1/stx2*

E. coli O157

Shigella/Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)



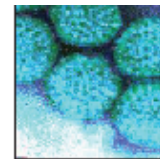
Parasites

Cryptosporidium

Cyclospora cayetanensis

Entamoeba histolytica

Giardia lamblia



Viruses

Adenovirus F 40/41

Astrovirus

Norovirus GI/GII

Rotavirus A

Sapovirus (I, II, IV and V)

Laboratório em infecções gastrointestinais

Coproculturas

- *Salmonela, Shigela, Campylobacter*
- *Yersinia, E coli ETP..*



Quando pedir?

- Indicações terapêuticas:
Gravidade clinica, Colites hemorragicas, Grupos de risco
- Saude Pública (DDO) ..

Infecções gastrointestinais

**Diagnóstico laboratorial no
Serviço de Urgência..**



Infeções Gastrointestinais - Diagnóstico na Urgência

**Internamento/
Prevenção de
infecção
nosocomial/
GEA Viral**

Testes Ag virais

**Colites
Hemorragicas**

Coproculturas

**Internamento/
Gravidade Clínica/
Grupos de Risco**

**Testes Ag virais
Coproculturas**

**Estudos
epidemiológicos**

Seguir orientações

Suspeita de DDO

Coproculturas

**Suspeita de doença
importada**

**RT PCR para
agente em causa**

Infecções Sistémicas



Infecções sistémicas

Quando pedir exames laboratoriais?

- Gravidade clínica
- Suspeita de infecções importadas
- Estudos epidemiológicos
- **Sempre que é importante fazer o diagnóstico etiológico**

Laboratório em infecções sistêmicas..

SANGUE

- **Hemoculturas**
- **Serologias (2 amostras)**
- **Pesquisa Plasmodio..**

- **Hemograma**
- **MSP**
- **PCR/Procalcitonina**
- **Outros...**

Laboratório em infecções sistémicas

Sangue

O QUE NÃO PEDIR..

- Monotest < 3 anos
- Reacção de Widal
- Reacção Weil Felix
- Reacção de Hudlesson
- Serologias para Bordetella..
- Serologias para virus herpes simplex...

Infecções sistêmicas - Diagnóstico na Urgência

AVALIE O DOENTE

AVALIE MESMO BEM O DOENTE

Laboratório em doenças infecciosas..

Don't Order a Test Just Because You Can

Laboratório em doenças infecciosas..



Unidentified bugs are robbing more than just your patients' health.

Obrigada!