



**VETScience**<sup>®</sup>  
*GUIDES*

O GUIA DEFINITIVO SOBRE

# **PCR REAL TIME**

**TECSA**<sup>®</sup>

TECNOLOGIA EM SANIDADE ANIMAL

# O QUE É PCR REAL TIME?

Atualmente, as técnicas de amplificação e detecção de ácidos nucleicos estão entre as *ferramentas mais valiosas na pesquisa biológica*. Cientistas em todas as áreas da ciência da vida - pesquisa básica, biotecnologia, medicina, ciência forense, diagnósticos e muito mais - utilizam esses métodos em uma ampla gama de aplicações.

A PCR ou Reação em Cadeia da Polimerase se tornou a pedra angular da biologia molecular moderna em todo o mundo.

***A PCR Real Time (qPCR ou PCR em Tempo Real) é uma forma avançada da Reação em Cadeia da Polimerase que maximiza o potencial da técnica.***

Como o nome sugere, a PCR Real Time é uma técnica usada para monitorar o progresso de uma reação de PCR em tempo real. Ao mesmo tempo, uma quantidade relativamente pequena de produto de PCR (DNA, cDNA ou RNA) pode ser quantificada.

A PCR Real Time baseia-se na detecção da fluorescência emitida por uma molécula repórter que aumenta à medida que a reação avança. O aumento da fluorescência ocorre devido ao acúmulo do produto de PCR (fragmento alvo) a cada ciclo de amplificação.

A PCR Real Time *facilita o monitoramento da reação à medida que ela progride*. Pode-se detectar quantidades extremamente mínimas de ácido nucleico do patógeno investigado e quantificar o produto final com precisão. Além disso, *não há necessidade do processamento pós-PCR*, como ocorre no PCR convencional, fator esse que *evita*

*contaminação e economiza recursos e tempo.*

*Estas vantagens da técnica de PCR Real Time baseada em fluorescência revolucionaram completamente a abordagem da quantificação do DNA e RNA baseada em PCR.*

Os testes de PCR Real Time são fáceis de executar, apresentam sensibilidade e especificidade bastante elevadas, e fornecem escopo para automação.

A PCR Real Time é *também referida como RT-qPCR* quando é inserido ciclo adicional de transcrição reversa, que leva à formação de uma molécula de DNA a partir de uma molécula de RNA. Isso é feito porque o RNA é menos estável em comparação ao DNA.

De forma geral, a PCR Real Time representa uma *valiosa ferramenta diagnóstica de alto fator tecnológico agregado*. Além de permitir *detecção precoce de agentes infecciosos* em animais doentes, o teste exibe *grande precisão diagnóstica e viabiliza detecção múltipla de patógenos relacionados a um problema comum*.



## QUAL A DIFERENÇA ENTRE PCR REAL TIME E PCR CONVENCIONAL?

A *Reação em Cadeia da Polimerase convencional (PCR ou cPCR)* foi desenvolvida em 1983 por Kary Banks Mullis. A técnica produz um grande número de cópias a partir de uma determinada sequência de DNA alvo para diversas análises.

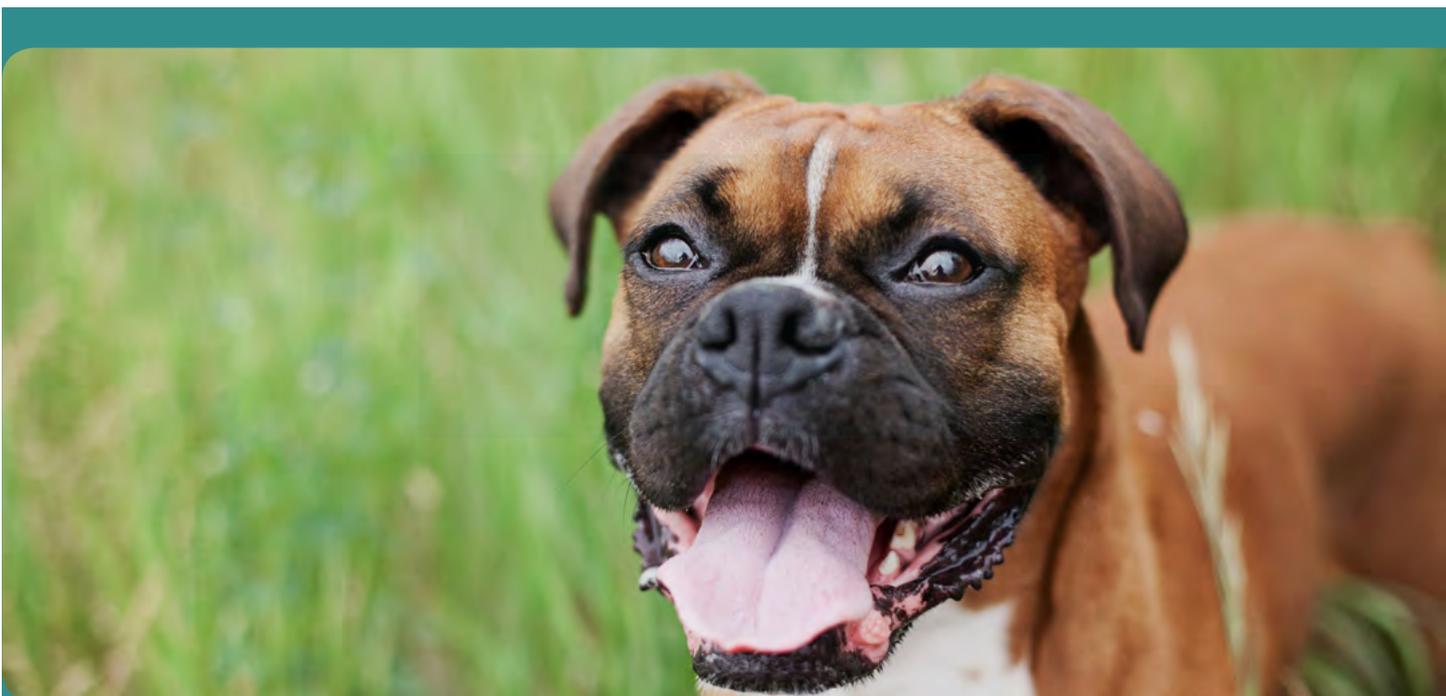
***O método revolucionou a biologia molecular, mas foi apenas um ponto de partida para inúmeros outros aprimoramentos que atualmente substituem a PCR convencional com inúmeras vantagens.***

Algumas limitações da técnica cPCR podem afetar sua aplicabilidade diagnóstica. A classificação como detecção end-point significa que a cPCR demanda uma etapa extra após a amplificação, que corresponde à eletroforese em gel de agarose.

O resultado é apenas qualitativo (não permite quantificação). O positivo é constatado mediante visualização de banda no gel com o tamanho correspondente ao fragmento amplificado.

Ocorre que, a resolução do gel de agarose é muito pobre e soma-se a isso, o fato de haver baixa precisão na discriminação de tamanho dos fragmentos amplificados. Além disso, o processo demanda muito tempo, o que inviabiliza prazos curtos de liberação de resultados.

Em adição à baixa precisão e resolução, a *cPCR é bem menos sensível que as técnicas mais modernas*. Outros limitantes correspondem ao processamento pós-PCR e ausência de automação, fatores que aumentam muito a chance de contaminação.



Em contrapartida, **a PCR Real Time (qPCR), considerada uma variação da técnica convencional, representa a melhor ferramenta para diagnóstico molecular.**

O método é vinculado a um sistema de monitoramento que quantifica emissão de fluorescência produzida durante os ciclos de amplificação.

A qPCR viabiliza **amplificação, detecção e quantificação simultaneamente, agilizando a obtenção de resultados e minimizando o risco** decorrente de possíveis contaminações.

O **processo é rápido** e permite inclusive a **detecção múltipla de sequências-alvo em uma mesma amostra (qPCR Multiplex).**

**Comparado à cPCR, a PCR Real time apresenta maior reprodutibilidade, especificidade, sensibilidade, precisão e acurácia diagnóstica, além de também reproduzir resultados quantitativos**

quesão importantes para acompanhamento de evolução clínica e infecciosa, avaliação de eficácia terapêutica e inferência para interferência vacinal a partir de cepas atenuadas.



## 3 Dicas para

# A INTEPRETAÇÃO DE RESULTADOS DE EXAMES DE PCR REAL TIME

*Esse conteúdo é muito bacana!*

*Já podemos perceber pelos textos anteriores que a PCR Real Time é uma excelente ferramenta diagnóstica, mas é importante ter alguns cuidados na interpretação. Antes de seguirmos, preciso reforçar que o alvo de detecção desse exame é o material genético do patógeno que está sendo investigado. Pensando nisso, seguem algumas dicas para auxiliar seu raciocínio diagnóstico diante de um resultado de PCR Real Time:*

### Dica 1: O resultado positivo!



Quando o resultado positivo correlaciona com a suspeita clínica, **parabéns! Você fechou o diagnóstico!**

Mas **atenção, o positivo também pode ocorrer em animais infectados que ainda não iniciaram a sintomatologia clínica.**

Isso é um fato que demonstra a precocidade de detecção do exame, que é uma das grandes vantagens em relação aos ensaios sorológicos, que demandam soroconversão do animal para evidenciarem resultado compatível.

Existe também **outras situações de resultado positivo onde o animal infectado permanece assintomático** porque houve resposta imunológica eficiente e o agente foi eliminado antes de haver evidência clínica.

Por último, em alguns cenários que são relativamente comuns para as infecções virais, **o positivo pode aparecer em um animal portador subclínico. Esses animais tem o agente infeccioso e dispersam ele pelo ambiente, entretanto, não desenvolvem a doença!**



## Dica 2: O resultado negativo!

*O negativo pode ser considerado para excluir a suspeita clínica, desde que a amostra seja condizente com o tropismo infeccioso do agente em questão.*

Funciona assim, a coleta da amostra tem que estar relacionada com as vias de disseminação do patógeno.



## Dica 3: Existe falso-positivo ou falso-negativo?

Vamos lá, existem vários controles para a reação de PCR Real Time, desde a extração de ácidos nucleicos até o processo final de amplificação.

O TECSA também investe massivamente em automação! Os processos ocorrem em sistemas fechados e com máximo de vigilância possível! Enfim, isso é para te assegurar que **não existe o falso-positivo (ufa!)**! Por outro lado, **o falso-negativo pode ocorrer em algumas situações.**

### 3 DICAS PARA a interpretação de Resultados de Exames de PCR Real Time

*É essencial* que também seja determinada **a fase clínica que o animal apresenta**, pois ela pode refletir amostragens diferentes para o diagnóstico de um mesmo patógeno.

*Na dúvida, o TECSA tem um Manual de Coletas sempre atualizado que especifica as amostragens cabíveis para as várias reações de PCR Real Time disponíveis.*

Você pode ainda ligar na assessoria científica e tirar dúvidas. Temos uma equipe de veterinários bastante capacitados para te orientar melhor!

Por exemplo, caso você esteja investigando um **patógeno bacteriano ou fúngico em um paciente que está em tratamento com antibióticos ou antifúngicos, pode ser que haja um falso-negativo.** Basicamente, porque o agente não vai estar mais disponível para detecção.

Outra situação ocorre quando a amostra não é armazenada de forma adequada, isso pode gerar degradação dos ácidos nucleicos e inviabilizar a detecção. **Lembre-se sempre de armazenar a amostra coletada em geladeira (2-8°C) ou freezer (-20°C).**

Quando for armazenar por até 72 horas, pode considerar geladeira, mas para armazenamento em períodos maiores (1-2 meses), congele a amostra! Ah, e envie sob refrigeração para o laboratório!

# 3 Mitos sobre

## O PCR REAL TIME

*Esse tópico vai ser servir para “quebrar” alguns conceitos que talvez já tenha ouvido falar sobre a técnica de PCR Real Time! Vamos lá!*

### Mito 1: PCR Real Time é muito caro!

*A boa notícia é que os preços caíram muito (e vão continuar caindo!), particularmente para as reações de PCR Real Time oferecidas pelo TECSA Laboratórios.*

Essa com certeza muitos colegas já ouviram! E quer saber, até bem pouco tempo atrás, realmente havia um custo alto associado a execução dessa técnica, e em virtude da baixa demanda, os preços dos exames eram bem elevados!

Isso fazia com o que esse exame fosse encaixado somente quando os demais, de custo mais reduzido, não fossem conclusivos sobre o diagnóstico.

A ideia é **propiciar aos clientes exames de elevado valor tecnológico** para entrarem na composição primária da linha de raciocínio diagnóstica.

Acho que já falei dos **painéis multiplex** nos textos anteriores né, pois é, eles são também chamados de **painéis inteligentes**, porque além de te ajudar no diagnóstico diferencial, são oferecidos com **preços** ainda mais **reduzidos** comparados ao montante do valor das reações individuais!

### Mito 2: O resultado do PCR Real Time demora muito!

*Esse é outro grande equívoco!*

As reações de amplificação **demoram em média de 2-3 horas** para serem concluídas.

Como o resultado pode ser acompanhado em **tempo real**, **isso significa que ele é produzido igualmente rápido.**

O processo de extração de ácidos nucleicos também toma um tempinho, mas hoje, com o processo automatizado, **o TECSA Laboratórios produz 96 extrações em apenas 1:30h**. Isso sem contar, que o processo ocorre em sistema fechado e com **rendimento elevadíssimo**, sempre atrelado ao **máximo de qualidade!**

Fique tranquilo que brevemente, sua percepção da **redução dos prazos de entrega vai ser cada vez maior!**

## Mito 3: PCR Real Time é tudo igual!

*Ah, mas não é mesmo!*

Já vimos que o **PCR Real Time difere muito do PCR convencional**, especialmente pelo conjunto de vantagens que oferece!

Agora, **é importante saber que também existem diversas técnicas para PCR Real Time.**

Falaremos melhor desse tópico depois, mas só pra dar um pequeno "spoiler", **as principais variações consideram os métodos SYBR Green e TaqMan.**

Sabe qual é o melhor? O método TaqMan (Dica TECSA: todos nossos exames PCR Real Time utilizam sondas TaqMan)!

Você ganha ainda mais em sensibilidade, especificidade e viabilidade de reações Multiplex!

Mais pra frente, vamos ter um tópico pra falar apenas sobre **métodos de PCR Real Time** e você vai entender melhor!



# PCR REAL TIME É SEMPRE IGUAL?

Se chegamos bem até esse assunto, você já conseguiu entender o conceito de PCR Real Time, suas aplicações, interpretação de resultados, benefícios e vantagens. Fico realmente feliz se tive sucesso ao te transmitir esses conhecimentos!

Minha proposta hoje é *esclarecer algumas técnicas mais comumente utilizadas para a metodologia de PCR Real Time*. Já sabemos que a detecção de formação de produtos é vinculada a um fluoróforo repórter. *A amplificação dos alvos investigados é proporcional à emissão de fluorescência da reação.*



***Os dois principais tipos de repórteres são os marcadores de ligação à DNA fita dupla (o mais conhecido é o SYBR Green) e os primers marcados, também chamados de sondas ou probes.***

Os marcadores de ligação têm grande afinidade por DNA fita dupla, de forma que, quanto maior o número de produtos de amplificação, maior a quantidade de marcador ligado.

O marcador mais utilizado, o *SYBR Green*, possui uma fluorescência basal bem baixa, que potencializa muito quando em ligação ao DNA fita dupla. Essa técnica tem ótima sensibilidade, mas *demandava uma análise adicional* após a reação para avaliar os produtos de amplificação.

Isso ocorre porque o SYBR Green se liga em qualquer molécula de DNA fita dupla, e é preciso rodar uma avaliação de Curva de Melting após a ciclagem para verificar se os produtos de amplificação são realmente os esperados ou se correspondem a amplificações inespecíficas (Ops!!!).

A temperatura de melting de um produto de amplificação corresponde à faixa de temperatura onde 50% das fitas de DNA estão aneladas (ligadas) e 50% estão separadas.

Como ela depende de tamanho e composição de nucleotídeos do produto de amplificação, ela acaba determinando a especificidade de amplificação que o SYBR Green falha em determinar. Resumindo, *é uma boa técnica, mas que gera uma*

*validação bem trabalhosa e etapas adicionais de verificação de amplificação.*

*A técnica por sondas, mais avançada que os marcadores de ligação, envolve um terceiro primer que está ligado a uma molécula repórter (fluoróforo) e uma molécula quencher. As sondas mais utilizadas são as sondas TaqMan.*

Para você entender a relação repórter/quencher, vou dar um exemplo bem prático.

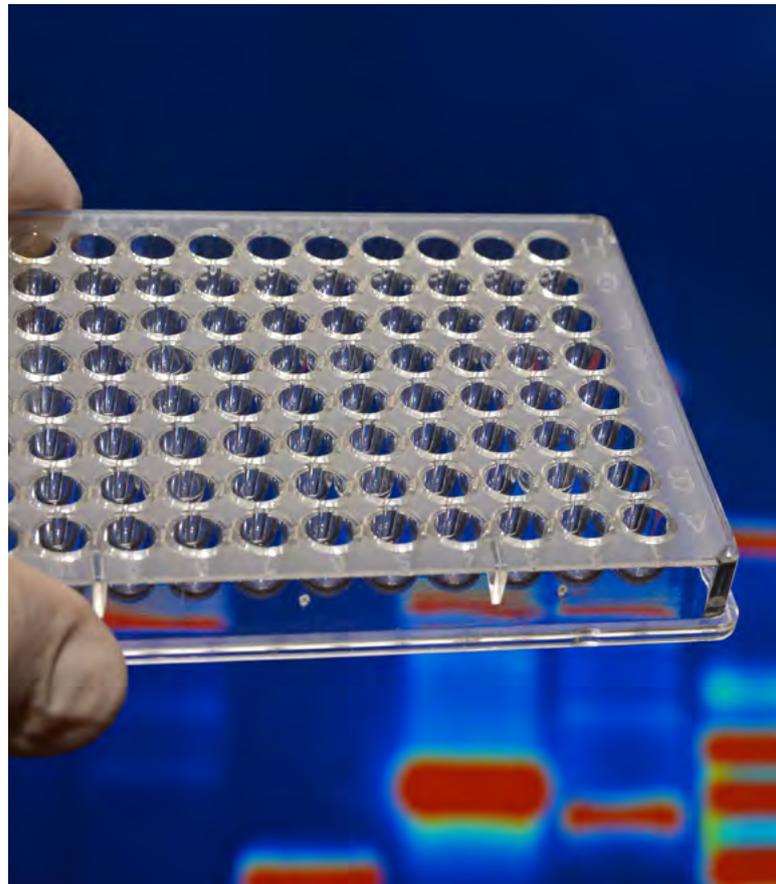
Considere que você é o repórter, cheio de brilho e pronto para chamar a atenção de um monte de pessoas na balada, mas daí você chama para sair com você aquele (a) amigo (a) que é um Reynaldo Gianecchini ou uma Gisele Bündchen da vida.

O que acontece? Essa outra pessoa vai te ofuscar, não vai?! Você vai ficar apagadinho ali do lado dela, rs!

Assim funciona o quencher quando está ligado na mesma fita que o repórter... não há emissão de fluorescência, a molécula repórter fica ali sem brilho quando excitada pela luz.

***Logo quando ocorre a ligação de primers e sonda aos sítios específicos do fragmento de gene alvo e a DNA polimerase vem construindo a nova fita, ao passar pela sonda, a DNA polimerase hidrolisa ("quebra") ela e libera o repórter. Nessa situação, ao ser excitado pela luz, o repórter emite a fluorescência.***

Agora que entendemos o funcionamento das técnicas, vamos botar na balança para



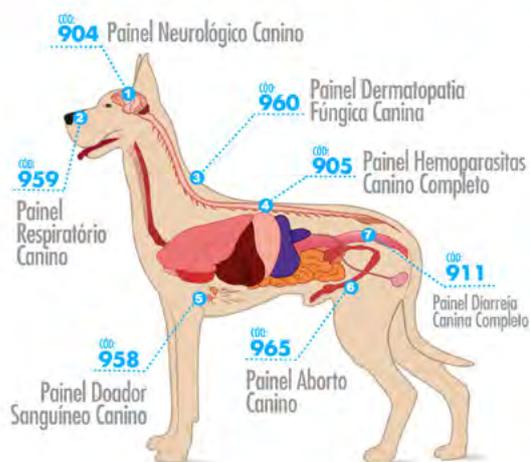
ver os prós e contras! Ambas asseguram elevada sensibilidade de detecção, mas a técnica de sondas TaqMan determina especificidade superior (tem um terceiro primer na reação!), maior reprodutibilidade e também permite a realização das reações Multiplex (basta trabalhar com fluoróforos com espectro de absorvância diferentes para cada alvo a ser investigado).

Se ouvir falar por aí que sondas TaqMan encarecem muito a reação PCR Real Time, isso é coisa do passado viu!

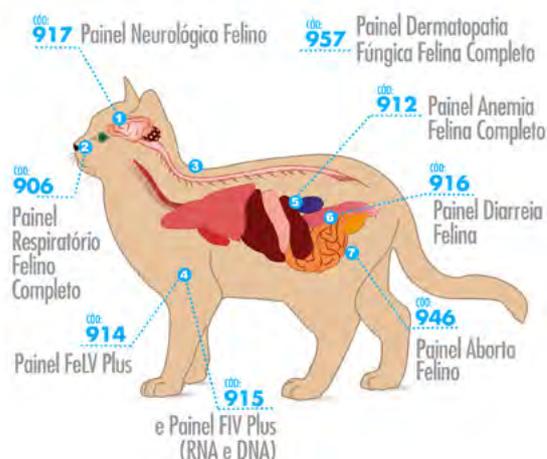
*Atualmente, o custo das sondas caiu muito e quando fazemos o comparativo dos reagentes SYBR Green versus Sondas TaqMan, praticamente não há diferença!*

***Ficou claro que PCR Real Time não é tudo igual, né?!***

## PAINÉIS FACILITADORES Multiplex Real Time PCR



## PAINÉIS FACILITADORES Multiplex Real Time PCR



# QUE SÃO PAINÉIS MULTIPLEX?

***Aposto que em algumas vezes você tenha ficado receoso de sugerir uma suspeita mais concreta por conta de inespecificidade clínica, estou certo?***

Isso é normal, muitos patógenos apresentam mecanismos de patogenicidade parecidos e cursam com lesões direcionadas para mesmo órgão ou sistema. Só, que ao mesmo tempo, fica difícil trabalhar os diagnósticos diferenciais por vários motivos diferentes, tais como condição financeira do tutor, amostragem dificultosa ou de pequeno volume, ou até mesmo animais de prognóstico ruim, que não permitem que seja dispensado muito tempo para fechar diagnóstico.

***Uma alternativa fantástica para otimizar sua rotina diagnóstica são as reações PCR Real Time Multiplex.***

***Através delas, você pode fazer diagnóstico múltiplo de agentes infecciosos em uma mesma reação,*** e a partir de uma mesma amostra, lembrando que as reações de PCR Real Time podem ser conduzidas com volumes bem pequenos. Vou exemplificar com uma situação bem recorrente.

Existem vários hemoparasitas que causam enfermidades com sinais clínicos comuns. ***Ao solicitar um Painel Hemoparasitas por PCR Real Time Multiplex, você assegura precisão diagnóstica ao considerar todos os diferenciais mais prováveis para aquele quadro clínico.***

Dessa forma, você ganha em acurácia nos resultados e ainda considera a possibilidade de detectar coinfeções, o que geralmente dificulta o diagnóstico e compromete o tratamento.

Além disso, ao contratar os painéis multiplex, que não são chamados de “painéis inteligentes” à toa, ***o custo total sai bem mais barato que se fosse solicitar as reações individuais.***

Vale muito à pena tirar uma parte do seu tempo para se inteirar dos ***painéis que o TECSA Laboratórios fornece!***

***Temos painéis respiratórios, neurológicos, diarreia, aborto, doador sanguíneo, hemoparasitas, dermatopatias fúngicas, anemia e retrovíroses (incluindo DNA proviral).***

Uma dica importante é que todos nossos painéis de diagnóstico PCR Real Time Multiplex foram compostos com sugestões das principais referências clínicas veterinárias do país, e também foram baseados em estudos epidemiológicos consistentes que correlacionam os patógenos realmente representativos para impacto infeccioso em cães e gatos no Brasil.

## O QUE SÃO PAINÉIS MULTIPLEX?



# A INFLUÊNCIA DA MÃO DE OBRA ALTAMENTE ESPECIALIZADA NA BIOLOGIA MOLECULAR

O diagnóstico molecular é alvo de inúmeros avanços tecnológicos. Todos os processos são constantemente evoluídos para caracterizar **reações cada vez mais rápidas e com custos mais acessíveis**.

Hoje, temos equipamentos sofisticados que associam automação à softwares intuitivos, com repertório diverso de análises, sejam de pequena ou até mesmo, grande complexidade.

Agora, falando da mão de obra em si, **os profissionais que conduzem as análises de biologia molecular demandam elevado grau de especialização**.

**Isso impacta diretamente na qualidade das reações que são introduzidas e oferecidas aos clientes**. Esses profissionais demandam conhecimentos bem aprofundados em diagnóstico molecular e análises de bioinformática.



Analisando esse cenário, dá impressão que os processos tenham adquirido maior simplicidade de manuseio, como se qualquer profissional da área de saúde com mínimo de perícia em pipetagem fosse capaz de conduzir uma análise.

**Mas só parece, né?!**

**A real proposta da evolução tecnológica é assegurar mínimo de interferência humana nos processos, garantindo eficácia, reprodutibilidade e ausência de contaminações.**

Isso em contar em ganhos em rapidez de resultados!

Toda reação de PCR Real Time, ao ser concebida, demanda um estudo muito elaborado sobre o genoma do patógeno-alvo, suas regiões de maior conservação gênica e desenho de várias pequenas sequências de complementariedade para compor o conjunto de primers e sondas.

Essas sequências são amplamente analisadas em programas de bioinformática antes de serem selecionadas. Após, são introduzidas para análises em bando de dados para averiguação de interferência com as diversas espécies ou subespécies geneticamente similares! Ufaaa, dá um trabalhão né, mas não para aí não!

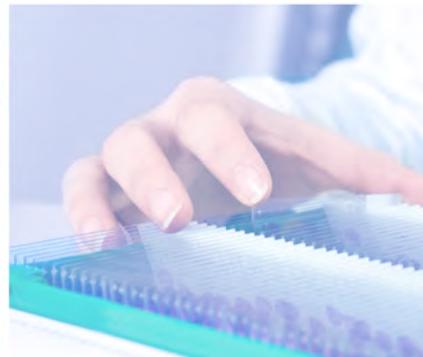
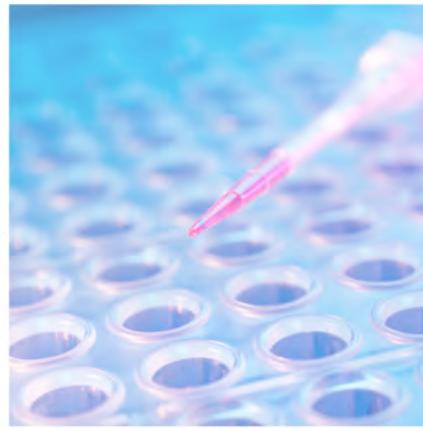
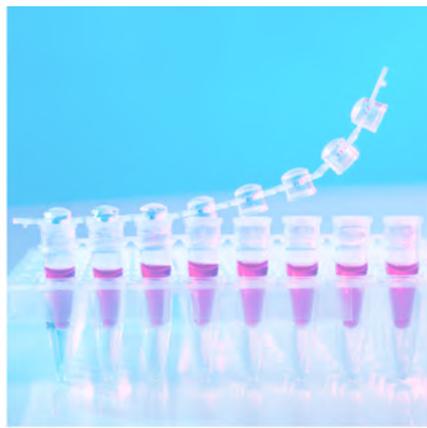
Ao serem sintetizados, os primers e sondas são validados em sucessivas reações com controles gênicos sintéticos e amostras biológicas sabidamente positivas.

***Somente após certificarmos eficácia, reprodutibilidade, especificidade e sensibilidade elevadas nas avaliações, é que validamos a reação para ser oferecida ao cliente.***

Acho que agora deu para entender a pertinência da mão de obra altamente

especializada para conduzir um setor de Biologia Molecular. E sabe o que é melhor?

***O TECSA Laboratórios possui dois doutores em Diagnóstico Molecular em sua equipe, e eu sou um deles. Estamos sempre à disposição para te garantir a melhor experiência em medicina laboratorial veterinária!***



# QUAL A INFLUÊNCIA DE MULTIPLEX MUITO ABRANGENTE?

*Esse é um assunto muito interessante!*

*Vou dar uma aprofundada para que você possa entender melhor a metodologia e saiba inferir sobre fatores que influenciam a aplicação dessa ferramenta incrível.*

*Por definição, o PCR Real Time Multiplex (Multiplex qPCR) corresponde à amplificação simultânea de mais de uma sequência alvo em uma mesma reação. A amplificação e detecção de vários alvos DNA ou RNA em uma mesma reação oferece muitos benefícios:*



## 1. Custos reduzidos:

Os alvos são amplificados juntos, ao invés de separadamente, **otimizando o uso de reagentes mais caros (dNTPs, enzimas, controles endógenos, etc.)**.



## 2. Resultados confiáveis:

A coamplificação elimina a variabilidade entre tubos ou poços.

**A qualidade dos dados pode ser assegurada porque a região alvo de interesse é normalizada através de inserção de controle endógeno** (amplificação de sequência do genoma do hospedeiro) dentro da mesma alíquota da amostra.



## 3. Conservação de amostras preciosas (limitantes):

**Obtenha mais dados por amostra.**

Quando a quantidade de amostra é limitada, a multiplexação permite que mais alvos sejam analisados usando uma única alíquota de amostra.



## 4. Maior rendimento:

Mais alvos podem ser analisados por reação.

## Legal, né?!

***Acho que já consegui te convencer do quão fantástico e versátil pode ser o Multiplex qPCR!***

Mas agora, é fundamental que você compreenda alguns “poréns” para que tenha maior confiabilidade nas suas solicitações!

***A otimização das condições de uma reação PCR Real Time Multiplex é muitas vezes laboriosa e requer muito tempo.***

Como existem vários primers e sondas dentro do mesmo tubo, é imprescindível que a reação multiplex não altere a sensibilidade das reações individuais.

Veja bem, é fácil de entender, imagina uma mesa de brigadeiros para uma festa com 4 crianças e, a mesma mesa de brigadeiros para uma festa com 15 crianças.

Pois é, a disputa por brigadeiros aumenta, né?! E pode ser, que não haja brigadeiros para todo mundo, o que pode ser bem chato! Agora, imagina reações multiplex com uma grande quantidade de patógenos alvo, vai funcionar da mesma forma!

Alguns estudos já conseguiram montar multiplex qPCR para até 40 alvos gênicos diferentes, mas a sensibilidade cai demais e os exames perdem muito em capacidade

diagnóstica, principalmente se a quantidade inicial de genoma pesquisado for pequena na amostra.

Essa dica é muito legal! Desconfie sempre desses painéis multiplex que oferecem muitos itens de detecção (particularmente, os acima de 10 alvos). Parecem muito atrativos inicialmente, mas acaba sendo um “mau uso” de uma ferramenta poderosa.

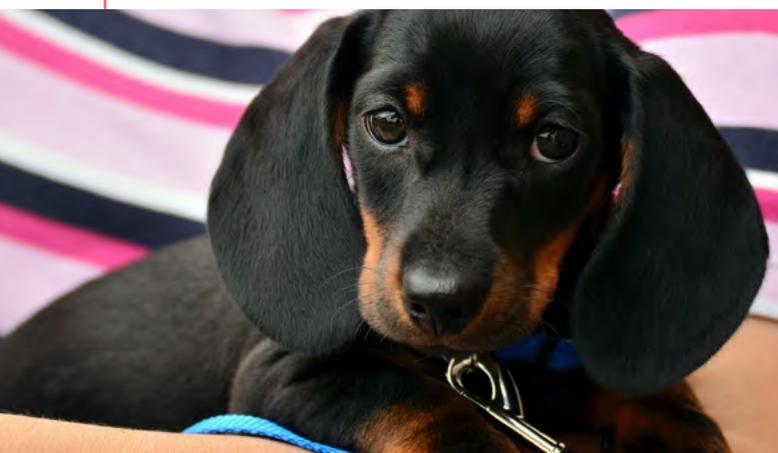
Ah, reserve um pouco do seu tempo para averiguar a pertinência de investigar alguns patógenos. Algumas empresas multinacionais oferecem painéis que incluem pesquisa de agentes que não tem significância epidemiológica no Brasil, e isso não faz sentido!

Depois de te “preocupar” um pouco, agora eu vou te “tranquilizar”, rs!

***Os painéis PCR Real Time Multiplex do TECSA são realmente “inteligentes” e além de estarem vinculados a estudos sérios de epidemiologia de doenças infecciosas no Brasil, foram criteriosamente avaliados junto às principais referências clínicas da atualidade.***

Isso, sem mencionar, que ***todos os nossos painéis são certificados para garantir que não haja interferência na sensibilidade das reações!***

Deu trabalho para deixar tudo “redondinho”. Vale muito à pena conferir! Tudo foi feito com muito carinho, ***pensando sempre em tornar sua rotina diagnóstica mais fácil e assertiva!***



# A IMPORTÂNCIA DE EQUIPAMENTOS DE PONTA NA BIOLOGIA MOLECULAR

Os rápidos avanços em biologia molecular não só revolucionaram a detecção de microrganismos infecciosos, mas também nossa compreensão da base genética da doença.

***A detecção precoce de enfermidades levou ao desenvolvimento de novas opções de tratamento, medicamentos direcionados e melhor atendimento ao paciente.***

Vamos direcionar o raciocínio para PCR ... pensa o quanto já avançamos em relação ao PCR convencional.

Esse processo antigo é praticado muitas vezes com extração de ácidos nucleicos manual, com reagentes produzidos in house (com pouco ou nenhum controle de qualidade), seguida de ciclos longos de

amplificação (algumas vezes acima de 4 horas!) e vários processos de manipulação pós-amplificação, como preparo de gel de agarose, eletroforese das amostras amplificadas e leitura em transiluminador UV. Isso demora muito, fora que o risco de contaminação é grande em várias etapas ... e também parece meio arcaico, né?!

***Os avanços tecnológicos que vieram com o PCR Real Time são refinamentos de métodos existentes que os tornam mais rápidos, mais sensíveis, mas específicos e muito mais eficientes.***

Para contextualizar, vou detalhar as inovações em PCR Real Time e os benefícios relacionados.



# 1 Extração de Ácidos Nucleicos

*Etapa muito crítica!*

*Eu acenderia um alerta vermelho para vários processos dessa etapa, mas ainda bem que contamos com kits e equipamentos altamente tecnológicos para otimizar e minimizar riscos da extração.*

*Nosso processo de extração hoje é totalmente automatizado em sistema fechado, o que já vimos nos textos anteriores que assegura ausência de conta-minação, elimina riscos de falha humana e agiliza (...e muito!!!) o tempo dispensado para obter os ácidos nucleicos.*

Os kits empregam tecnologia de beads magnéticas (método mais avançado disponível!) que resultam em maior rendimento e grau de pureza para as extrações.

Para certificar rendimento satisfatório, todas as amostras são avaliadas e quantificadas em equipamento de fluorimetria para DNA, RNA e proteínas. Ainda, para certificar eficácia do processo, todas as amostras extraídas são igualmente avaliadas para controles endógenos, que são direcionados para segmentos gênicos específicos do animal de origem da amostra.

# 2 Preparo de reações PCR Real Time:

*Os kits de enzimas para amplificação são outro show à parte!*

Existe um *mecanismo de cores* para o processo de pipetagem, *que garante a correta dispensação de reagentes e amostras durante o preparo das reações.*

Os reagentes apresentam estabilidade em temperatura ambiente (favorece flexibilidade e segurança no preparo das reações).

Agora o melhor, é que...

*...a tecnologia empregada permite eficácia, especificidade e sensibilidade superiores comparadas com outros kits, e ainda permite ciclagens ultrafast ...*

...que favorecem maior agilidade e eficiência de desempenho no equipamento de amplificação.



**A IMPORTÂNCIA DE EQUIPAMENTOS DE PONTA NA BIOLOGIA MOLECULAR**

## 3 Amplificações PCR Real Time:

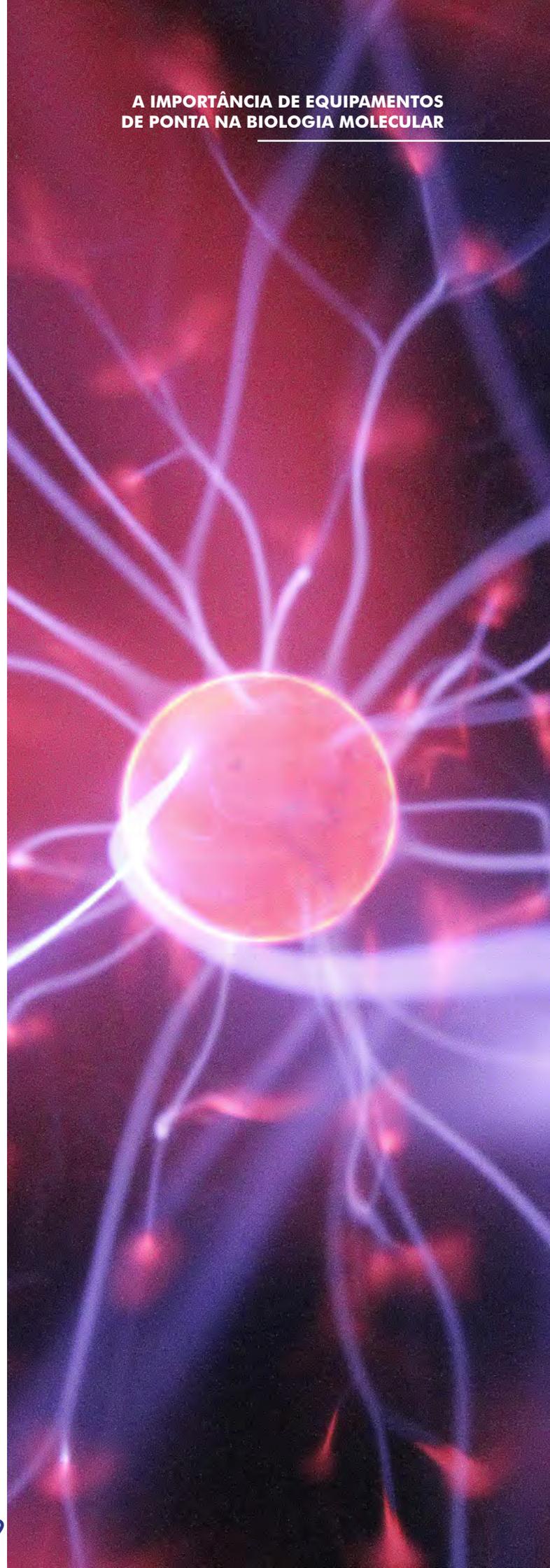
*Nessa etapa, os equipamentos de ponta fazem muita diferença!*

*Os equipamentos empregados possuem alta performance, baixa manutenção, elevada uniformidade térmica e óptica...*

...(importante para assegurar acurácia de ciclagens e leituras de fluorescência), além de permitir múltiplas aplicações de uso.

Possuem vários canais de detecção óptica, que propicia execução e otimização de reações multiplex PCR Real Time.

O software de operação permite *rastreabilidade de todos os processos, análises quantitativas, gráficos de desempenho*, tudo interligado *para aumentar a confiabilidade dos resultados*.



# VETSCIENCE MOLECULAR SERVICES



Depois de abordarmos alguns assuntos gerais em Diagnóstico Molecular por PCR Real Time, espero do fundo do coração ter feito alguma diferença para otimizar sua conduta diagnóstica.

Com o mesmo entusiasmo que fiz os demais textos para introduzir conceitos e peculiaridades de técnicas moleculares, hoje eu vou começar a apresentar a você as grandes vantagens da proposta VetScience Molecular Services.

Logo quando entrei no TECSA Laboratórios, tracei uma missão para expandir e “popularizar” os ensaios de diagnóstico molecular. Sempre vi vários colegas ansiosos para utilizar, mas ainda “presos” a técnicas mais convencionais, e um pouco perdidos sobre informações básicas e interpretações.

Justamente por ter traçado uma longa trajetória acadêmica em diagnóstico de doenças infecciosas e biologia molecular, é que me sinto seguro para abordar essa conversa com você e defender essas novas abordagens na sua rotina clínica.

*O setor Molecular Services surge, nesse contexto, para configurar como seu suporte direto para diagnóstico molecular veterinário.*

Dispomos de uma ampla variedade de análises por PCR Real Time, todas realizadas com sondas TaqMan (já vimos que é melhor que SYBR Green!). Além de detecção, todas as reações permitem quantificação de carga dos agentes infecciosos investigados (excelente para monitoramento infeccioso, avaliação de eficácia terapêutica, entre outras aplicações).

*Os painéis Multiplex PCR Real Time são opções muito interessantes para diagnóstico rápido e amplo de patógenos relacionados com quadros clínicos semelhantes.* Além disso, eu não havia falado antes, mas temos também uma seção muito bacana para diagnóstico de doenças genéticas através de sequenciamento gênico. Essa metodologia nos permite “ler” determinados fragmentos de genes e identificar mutações que são frequentemente relacionadas com predisposição genética à determinadas doenças de cães e gatos.

Como qualidade hoje é commodity, ou seja, parte integrante do produto ou serviço vendido, ***nossos exames asseguram todos os parâmetros para acurácia e eficiência.*** Por isso, nem vou focar nisso como diferencial do setor Molecular Services. Pode ter certeza que vai valer à pena acompanhar os próximos textos! Você vai entender os nossos grandes diferenciais em técnicas moleculares e o quanto isso confere precocidade, eficácia e assertividade para sua rotina diagnóstica!

# 5 MOTIVOS PARA VOCÊ ESCOLHER O TECSA NA HORA DO PCR REAL TIME

*Essa parte vai ser a mais fácil de todas, rs!*

*O PCR Real Time é considerado o método de diagnóstico com maior acurácia e sensibilidade atualmente disponível.*

*Nosso setor de Molecular Services foi modelado de forma tão criteriosa para trabalhar a sua satisfação e segurança nos resultados, que fica até um pouco difícil resumir os nossos diferenciais em apenas 5.*

## 1

### Reações PCR Real Time:

Óbvio que eu começaria por essa! Todas as reações foram desenhadas por veterinários com *pós-doutorado em Diagnóstico Molecular de Doenças Infecciosas* e são *altamente eficazes na detecção de patógenos infecciosos*.

Os ensaios foram rigorosamente validados em amostras biológicas e controles sintéticos para *assegurar máximo de sensibilidade e especificidade*.

Realizamos apenas reações PCR Real Time com *sondas TaqMan*, e todas permitem quantificação de carga de patógenos.

## 2

### Painéis PCR Real Time Multiplex

Os painéis “inteligentes” são ótimas *ferramentas de abordagem diagnóstica*, uma vez que trabalham causas infecciosas diferentes para quadros clínicos semelhantes, e ainda *podem evidenciar coinfeções*.

A concepção de cada um dos painéis envolveu uma ampla avaliação epidemiológica de patógenos relacionados e a opinião de algumas das maiores referências atuais em diversas especialidades clínicas veterinárias do Brasil.

Um detalhe importante é que a *detecção múltipla dos ensaios PCR Real Time Multiplex do TECSA Laboratórios não compromete a sensibilidade e especificidade das reações individuais*.

E mais uma dica legal, *o valor final do montante de patógenos investigados nos painéis sai muito mais em conta em relação às reações PCR Real Time individuais dos mesmos*.

## 3

### 3. Controles de qualidade

Por trás de cada resultado de PCR Real Time que o TECSA Laboratórios libera, existe um amplo e atuante sistema de gestão de qualidade que garante a acurácia e confiabilidade de cada procedimento.

A eficácia das extrações de ácidos nucleicos é determinada através de quantificação

por fluorimetria e reações para controles endógenos (reações PCR Real Time direcionadas para genes do hospedeiro do patógeno investigado).

Todas as reações são realizadas em duplicata (avaliação de reprodutibilidade) e acompanhadas necessariamente de controles negativos e positivos.

A curva-padrão de cada reação de quantificação é sempre feita para 6 pontos de diluição e todos em duplicata, a partir de fragmentos gênicos sintéticos correspondentes aos alvos de amplificação.

O setor é mensalmente avaliado com amostras positivas e negativas para controle de proficiência das reações. Além disso, de forma regular, são realizadas manutenções preventivas e calibrações de pipetas e equipamentos.

## 4 Automação:

Essa vantagem é uma das minhas preferidas! Além de permitir maior reprodutibilidade, minimizar erros humanos e possibilidade de contaminação, a automação em PCR Real Time agiliza muito o processo de análise.

Os processos ocorrem em ambiente fechado, com fluxo de ar controlado por filtros HEPA (filtros de ar com alta eficiência na separação de partículas) e esterilização pré e pós-operacional através de radiação ultravioleta.

Trata-se de equipamentos de alta tecnologia e que são igualmente submetidos a manutenções preventivas e calibrações.

## 5 Preços e prazos:

Qualidade, acurácia, sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade ... tudo isso é ótimo, né?! Mas isso tudo associado a preços e prazos atrativos, é o pacote perfeito! O TECSA Laboratórios oferece hoje os melhores preços e prazos para PCR Real Time por sondas TaqMan do país!

Ainda tem como melhorar? Claro! Fica atento aí que já começamos a trabalhar o portfólio 2019 e tem muitas novidades de exames chegando ... e preços e prazos menores também!

# POR DENTRO DO NOSSO SETOR

Como já construímos o raciocínio técnico sobre PCR Real Time, aplicações, vantagens e interpretações, esse momento agora é para te colocar por dentro das atividades e pessoas envolvidas nas suas análises.

Antes de seguirmos, qualquer dúvida sobre o que já falamos ou até mesmo sobre assuntos relacionados, me manda um e-mail ([otaviovalerio@tecsa.com.br](mailto:otaviovalerio@tecsa.com.br)) ou liga para mim (**31-3281-0500, opção 2**), vai ser um prazer receber seu contato!

Hoje o setor funciona com diagnóstico molecular 100% realizado por PCR Real Time (qPCR) com Sondas TaqMan e sequenciamento de DNA para doenças genéticas pelo método Sanger.

Todas as reações qPCR permitem a solicitação de quantificação de carga do patógeno investigado. São dezenas de reações padronizadas para máximo de sensibilidade e especificidade, que se somam aos vários painéis Multiplex, concebidos para otimizar sua abordagem diagnóstica.

Trabalhamos com equipamentos de última geração, com controles rígidos e manutenções/calibrações periódicas.

A extração de ácidos nucleicos ocorre em sistema inteiramente automatizado, através de beads magnéticas, com maior rendimento e pureza no isolamento do material genético. Os termocicladores de

PCR Real Time combinam canais múltiplos de detecção de fluoróforos com tecnologia para reações Fast (média 30 minutos) e outras tantas funções para assegurar elevada performance e acurácia nos resultados.

Além de uma equipe com vasta experiência em análises moleculares conduzindo o operacional, somos hoje dois veterinários doutores com pós-doutorado em diagnóstico molecular cuidando das introduções de novos exames, tecnologias e zelando pelo primor em cada amostra recebida e em cada resultado produzido.

Eu sou um dos responsáveis (<http://lattes.cnpq.br/9692375990899360>) e contatamos também com a Dra Marcela Gasparini (<http://lattes.cnpq.br/1457209177063219>), nossa Gerente de Projetos do TECSA Laboratórios.

Nos links que coloquei entre parênteses você consegue acessar nosso currículo Lattes e ver nossa trajetória acadêmica.

Espero que tenha gostado!

Acho que já falei isso, mas é um grande prazer poder contribuir para que o seu trabalho tenha sempre o máximo de excelência! Conta comigo!

**VETSCIENCE  
ESPECIAL PCR**

**VETScience**  
MAGAZINE

# ACOMPANHAMENTO DA EFICÁCIA DE TRATAMENTO PELO PCR REAL TIME - DIAGNÓSTICO QUANTITATIVO PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Atualmente estão disponíveis diversas metodologias para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC). O diagnóstico laboratorial pode ser feito através do exame parasitológico direto, por meio de métodos imunológicos: a Imunofluorescência indireta (RIFI) ou ensaios imunoenzimáticos (ELISA), por método de imuno-histoquímica e, mais recentemente, através de métodos **moleculares** de amplificação do ácido nucléico (**PCR e PCR-Real Time**). Cada metodologia tem particularidades que devem ser conhecidas pelo clínico no momento da requisição e da interpretação do exame.

## **PCR – Reação em Cadeia de Polimerase**

Vários estudos demonstram que a PCR é altamente específica e mais sensível do que os métodos parasitológicos clássicos utilizados para o diagnóstico da LVC. A utilização da PCR permite a detecção do parasita com uso de sondas específicas de forma não invasiva, através da amplificação do cinetoplasto da *Leishmania* sp. A PCR pode ser utilizada em qualquer amostra biológica, incluindo pele, sangue, biópsia de linfonodo e medula óssea. Reações falso-negativas podem ocorrer quando a quantidade de DNA está abaixo da sensibilidade de detecção do teste.

## **PCR- Real Time**

A técnica PCR Real Time é uma categoria de PCR que permite a detecção e **quantificação** em tempo real de uma região específica do material genético. Para que isso ocorra, são empregadas sondas específicas para o fragmento alvo, marcadas com fluoróforos. Durante a amplificação do DNA, essas sondas se ligam ao fragmento alvo e

são inativadas enzimaticamente. Ao serem inativadas, ocorre emissão de fluorescência, que é proporcional a um determinado produto da PCR. A detecção de fluorescência indica a presença ou ausência das regiões pesquisadas, de forma rápida, precisa e sensível.

## **Dúvidas mais frequentes**

### **Quais as vantagens da Técnica PCR Real Time na detecção das Leishmanioses?**

- Monitoramento da carga parasitária: **quantificação** da expressão gênica em diferentes amostras biológicas.
- Detecção rápida da *Leishmania*: graças à amplificação e à detecção simultânea dos produtos a cada ciclo realizado, a *PCR Real Time* representa uma significativa redução de tempo na realização nos testes moleculares.
- **Especificidade**: no PCR Real Time para *Leishmania* é utilizado material genético específico desse parasita, garantindo que apenas material genético de *Leishmania chagasi* (*responsável pela Leishmaniose visceral*) seja alvo da reação.
- **Sensibilidade**: a seleção da sequência alvo determina a sensibilidade e a especificidade do teste. Uma maior sensibilidade é atingida quando sequências de DNA presentes em cópias múltiplas são utilizadas, como, por exemplo, a região conservada dos minicírculos de DNA do Cinetoplasto (kDNA). O kDNA apresenta cerca de 10.000 minicírculos de DNA distribuídos em uma região conservada e

uma região variável. Iniciadores específicos para amplificar esta região conservada são úteis na detecção de todas as espécies de *Leishmania*, enquanto aqueles direcionados para a região variável permitem a diferenciação de cada espécie ou complexo de espécies existentes. Tais particularidades fornecem maior eficiência à reação e, conseqüentemente, ao diagnóstico e monitoramento durante a terapêutica da leishmaniose.

### **Quando solicitar testes moleculares por PCR Real Time na detecção das leishmanioses?**

A abordagem quantitativa pode ser útil no **monitoramento da carga parasitária** em tecidos caninos em fase de tratamento e pós-tratamento. Assim, é possível identificar recidivas da leishmaniose, acompanhar a evolução da patologia e avaliar a eficiência de um tratamento farmacológico. Conseqüentemente, o teste fornece informações para a otimização do tratamento e quanto ao prognóstico da infecção.

O **TECSA Laboratórios** realiza todos os testes para um diagnóstico completo, juntamente com a avaliação do Clínico Veterinário.

### **Observações:**

- Todas as amostras devem ser coletadas em frasco estéril.
- Enviar as amostras refrigeradas em até 72 horas.
- A confiabilidade, especificidade e sensibilidade do teste dependem do cumprimento de todas estas recomendações.

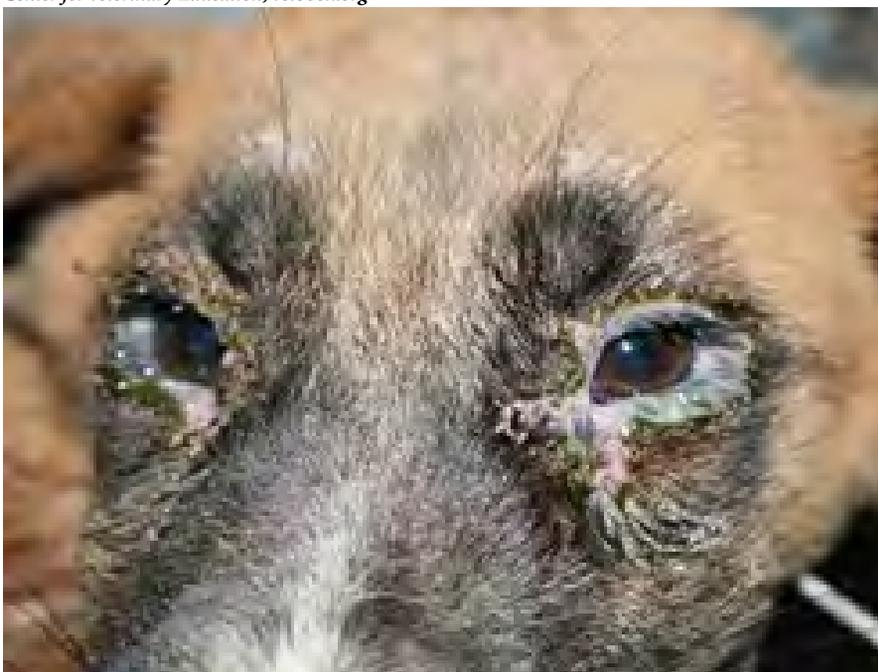


# CINOMOSE: DIAGNÓSTICO LABORATORIAL POR MEIO DA TÉCNICA PCR REAL TIME

## *A Doença e sua importância*

A cinomose é uma doença que possui alta morbidade e mortalidade. O agente etiológico é um RNA vírus de cadeia simples que pode ser eliminado por meio de **secreções respiratórias, oculares, urina, fezes e saliva** mesmo na ausência de manifestações clínicas. Ressalta-se ainda, que mais de 50% das infecções são assintomáticas, determinando assim o **papel de alguns animais como portadores e disseminadores** por até 90 dias após infecção. O período de incubação varia de quatro a dez dias e o primeiro sinal de infecção costuma ser uma conjuntivite serosa ou mucopurulenta (figura 1), seguida de tosse seca que, com o tempo, torna-se produtiva. As lesões cutâneas incluem uma dermatite vesicular ou pustular (impetigo) e hiperqueratose nasal e dos coxins digitais. Pode ocorrer ou não o aparecimento de sinais neurológicos. Mais de 50% das infecções são provavelmente assintomáticas, ressaltando-se a necessidade de um diagnóstico preciso.

**Fig.1: Cão com conjuntivite mucopurulenta. Fonte: Center for veterinary Education, vetbook.org**

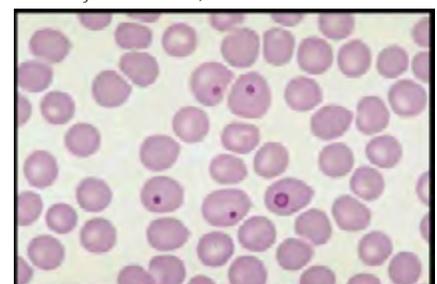


A possibilidade de se realizar um diagnóstico laboratorial *ante mortem* conclusivo da cinomose canina é de fundamental importância para a formulação de condutas terapêuticas mais adequadas, para a determinação do prognóstico de forma mais objetiva e para a adoção de medidas de controle e profilaxia diferenciadas e específicas, mais apropriadas para cada caso.

## *Diagnóstico Laboratorial*

O diagnóstico clínico da cinomose é muitas vezes inconclusivo, portanto faz-se necessário o diagnóstico diferencial com outras doenças infecciosas e parasitárias que podem apresentar um quadro semelhante tais como parvovirose, neosporose, verminose, giardíase, toxoplasmose, raiva, insuficiência hepática, encefalopatia hepática e trauma (síndrome vestibular). Exames complementares como **hemograma (COD 39-HEMOGRAMA COMPLETO - PET E ANIMAIS SILVESTRES) e análise do liquor (COD 169 - ANALISE DE LIQUOR)**, podem

ser realizados e sugerir a infecção pelo vírus da cinomose caso sejam inconclusivos. Entretanto, para a confirmação do diagnóstico da doença são necessários testes específicos como o **PCR-RT**. A avaliação hematológica e do líquido cefalorraquidiano (LCR) podem sugerir a infecção pelo agente viral, entretanto a confirmação diagnóstica exige testes específicos imunodirecionados ou que apresentem alta especificidade e sensibilidade em detectar a presença do antígeno. Achados em exames hematológicos como leucopenia/leucocitose podem ser transitórios. A bioquímica sérica não apresenta alterações significativas ou características, apesar de ser de grande importância na avaliação do estado geral do paciente. A evidência de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos (Lentz) em linfócitos também confirma o processo infeccioso (figura 2), porém os mesmos só estão presentes no sangue periférico (células vermelha e brancas) na fase inicial da infecção, dificultando assim sua confirmação apenas em pesquisa microscópica direta. Além disso, a presença de anticorpos da classe IgM e IgG também podem não ser definitiva para se fechar o diagnóstico (na ausência de informes vacinais, por exemplo ou vacinação recente).



**Figura 2: Inclusões de Lentz intra-eritrocitárias. Fonte: Canine Distemper, marvistavet.com.**

A natureza contagiosa e as altas taxas de mortalidade da cinomose tornam necessário acelerar o processo

de diagnóstico. Por conseguinte, um método sensível, específico e rápido é desejável para detectar inclusive pequenas quantidades de vírus no início da infecção. O PCR-RT é uma técnica molecular utilizada com o objetivo de identificar precocemente o vírus da cinomose em cães com manifestações clínicas da infecção, podendo ser realizada em **sangue total (amostra em EDTA)**, urina, fezes, líquor, secreção conjuntival e saliva de cães suspeitos. Resultados positivos no sangue, nas fezes e em swabs nasais ou conjuntivais podem ser obtidos em animais assintomáticos naturalmente expostos e **após vacinação com vírus atenuado**. Nesses casos é importante conhecer o histórico de vacinação do animal e usar a técnica de **qPCR (COD 772- CINOMOSE - METODO PCR REAL TIME QUANTITATIVO)**

para obter um diagnóstico acurado da doença. A qPCR permite quantificar a carga viral em diferentes tecidos e fluidos corpóreos como o sangue. É possível diferenciar um animal submetido à vacinação para cinomose com manifestações clínicas decorrentes de qualquer outra enfermidade de um cão realmente infectado pelo vírus, uma vez que durante a infecção a carga viral é exponencialmente maior.

Portanto **o diagnóstico preciso e precoce pode ser obtido por meio da técnica de qPCR Real Time QUANTITATIVO**, diferenciando **ANIMAL CUJA VACINAÇÃO FOI RECENTE DE ANIMAL INFECTADO**. Tal recurso diagnóstico apresenta grande sensibilidade associada à alta especificidade, sendo capaz de detectar mínimas quantidades

de partículas virais até mesmo no início da infecção, independente da duração e da apresentação clínica da doença em diferentes tecidos e fluidos corpóreos. Além disso, permite a adoção de medidas de suporte, controle e prevenção mais adequadas, determinando o prognóstico. As amostras a serem coletadas (eleição) para realização da PCR ante mortem são **sangue total em EDTA** e líquor (sinais inespecíficos) ou urina, fezes, secreções conjuntival e tonsilas (clínica severa). Após a morte do animal podem ser coletados fragmentos de bexiga, tonsilas e linfonodos, fixados em solução de formalina a 10% e destinados à avaliação histopatológica, evidenciando-se a presença de corpúsculos de inclusão (figura 3).

**Figura 3: Fotomicrografia de cérebro de cão com cinomose. Notar a extensa inclusão no núcleo de um astrócito. Fonte: Viral and prion diseases of the CNS, vet.uga.edu.**



**Referência:**

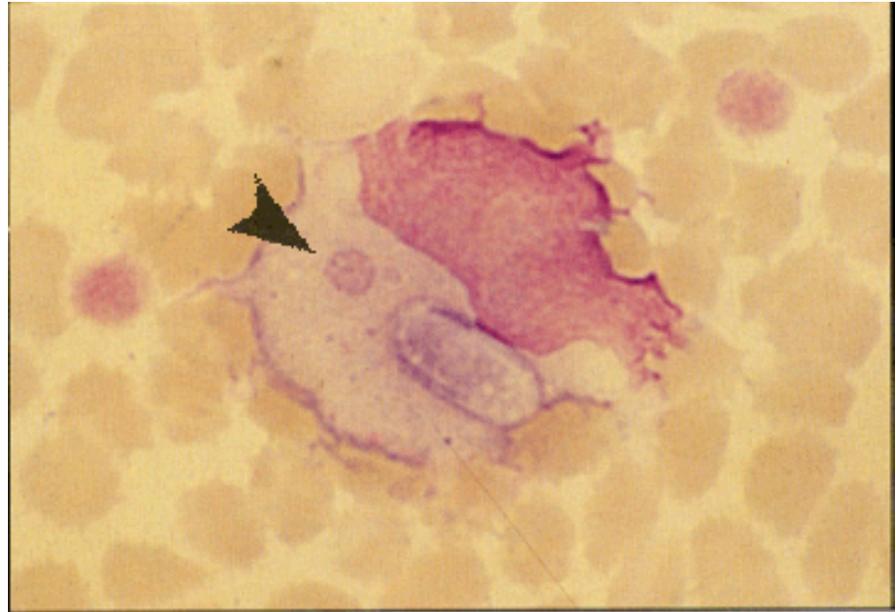
Texto adaptado de: CUNHA G.R. et al. Detecção precoce e quantificação de vírus da cinomose por PCR quantitativa em tempo real (qPCR) em diferentes tecidos e fluidos de um cão. *Clínica Veterinária*, ano XVII, n.104, p.90-96, 2013.  
APPEL M.J.G. Cinomose in TILLEY L.P., SMITH JR. F.W.K. *Consulta Veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina*, 3.ed. p.224-225, 2004.



# ERLIQUIOSE CANINA E FELINA DIAGNÓSTICO POR PCR REAL TIME

## *A Doença e sua Classificação*

A Erliquiose é uma patologia causada por rickettsias cujos vetores de transmissão da doença são carrapatos. Sua distribuição é cosmopolita e acomete vários mamíferos, dentre eles cães, gatos e humanos (potencial zoonótico). A denominação “erliquiose” é uma descrição utilizada para caracterizar a infecção pelos parasitos intracelulares pertencentes à família Anaplasmataceae. A diferenciação entre as espécies foi baseada de acordo com a sequência genética dos agentes, de forma a se determinar o grau de parentesco entre as várias espécies do gênero. **Didaticamente, as erliquioses recebem classificação de acordo com tipo celular atingido e espécie animal acometida:** Erliquiose Monocítica Canina, causada pela *Ehrlichia canis*; Erliquiose Granulocítica Canina, causada por *Ehrlichia ewingii* e *Anaplasma phagocytophilum*; Erliquiose Trombocítica Canina (atualmente Trombocitopenia Cíclica Canina), causada pelo *Anaplasma platys*; Erliquiose Monocítica Equina, causada pela *Neorickettsia risticii*, Febre do Rio Potomac ou Erliquiose Granulocítica Equina, causada pelo *Anaplasma phagocytophilum*; Erliquiose Bovina (Nopi), causada pelo *Anaplasma bovis*; Erliquiose ovina (atualmente, Anaplasmoze Ovina), causada pelo *Anaplasma ovis*; Erliquiose Granulocítica Humana (atualmente, Anaplasmoze Granulocítica Humana), causada pelo *Anaplasma phagocytophilum*; Erliquiose Monocítica Humana, causada pela *Ehrlichia chaffeensis* e pela *Ehrlichia canis*. Na Erliquiose Felina, os corpúsculos de inclusão e mórulas de *Ehrlichia canis* foram encontrados em células sanguíneas mononucleares e polimorfonucleares.



*Ehrlichia em célula monocítica. Fonte: mygermanshepherd.co.uk*

## *Transmissão e Diagnóstico*

Sua transmissão se faz pela inoculação de sangue proveniente de um animal infectado a outro sadio pelo intermédio de carrapatos, principalmente da espécie *Rhipicephalus sanguineus*. A transmissão por outros vetores artrópodes ainda é discutida, porém a transmissão por meio de transfusão sanguínea pode existir, principalmente em animais com doença subclínica, sendo importante a triagem desses doadores, associada à tipagem sanguínea. O período de incubação varia de uma a três semanas com multiplicação em fígado, baço e linfonodos determinando assim a fase aguda da doença, onde a concentração de títulos de anticorpos classe IgM eleva-se no soro. Nessa fase os animais estão infectantes e além da detecção de IgM pode-se evidenciar o agente por meio de pesquisa parasitológica direta em esfregaço de sangue periférico (Pesquisa de Hematozoários, muito sujeita a falso negativo) ou mesmo pesquisa biomolecular por meio da técnica de PCR, sendo aconselhável a

técnica quantitativa (PCR Real Time). Ocasionalmente a fase aguda não pode ser percebida, caracterizando uma infecção subclínica. Quando o sistema imune do indivíduo não está comprometido por outras doenças de base ou for eficiente, pode-se obter uma forma crônica sem sintomas, o que caracteriza animais portadores assintomáticos. Tais animais estão susceptíveis à “reagudização” e a evidenciar o quadro sintomático. Na fase crônica da doença níveis de anticorpos classe IgG podem ser identificados pela técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Ensaios baseados em Imunocromatografia também devem ser utilizados na avaliação sorológica pareada com intuito de se avaliar títulos crescentes de IgG de modo a associar doença estabelecida em fase crônica, diferenciando assim de “cicatriz imunológica”, uma vez que títulos de IgG específicos contra *Ehrlichia* e *Babesia* podem permanecer circulantes de 3 a 11 meses mesmo após tratamento

e cura clínica. Além disso, a reexposição (ambiente+vetor), mesmo após tratamento do indivíduo, favorece à nova infestação e provável reinfecção. Os sinais da doença podem ser inespecíficos e marcados por emagrecimento, caquexia, apatia, anorexia, febre intermitente, dores articulares, hiperestesia (felinos), sensibilidade à palpação e desidratação. Vasculite e consequentes petéquias podem ser achados comuns. Na avaliação hematológica completa e bioquímica sérica constituem-se achados importantes: trombocitopenia, hiperproteinemia marcada por hiperglobulinemia (principalmente frações alfa e gama evidenciadas na eletroforese), elevação de AST, ALT e Fosfatase Alcalina. Anemia e leucopenia também podem ocorrer dependendo da fase e intensidade da parasitemia. As células infectadas são transportadas pelo sangue para outros órgãos do corpo, especialmente pulmões, rins e meninges, e aderem-se ao endotélio vascular, induzindo vasculite e infecção tecidual subendotelial. O consumo, o seqüestro e a destruição das plaquetas parecem contribuir para a trombocitopenia durante a fase aguda. A contagem de leucócitos totais pode variar e a anemia, relacionada à supressão da produção de eritrócitos e a destruição acelerada dessas células, desenvolve-se progressivamente

durante a fase aguda. A trombocitopenia pode estar associada a um defeito adquirido da membrana plaquetária associado a elevações acentuadas em concentrações séricas de globulina (imunomediada). Ainda na fase crônica, a realização de um mielograma pode evidenciar hipoplasia mielóide, eritróide e megacariocítica associadas à hiperplasia linfóide e de plasmócitos, além da presença de mórulas. O material aspirado de medula óssea (mesmo com baixa carga parasitária e volume reduzido de amostra) pode ainda ser submetido à **PCR Real Time, realizada pelo TECSA Laboratórios, em sistema fechado que minimiza contaminação e variável operacional humana, passando por 5 níveis de controle interno que garantem a realização de uma técnica com 99,99% de especificidade e sensibilidade superior a 95%. Além de utilizado no diagnóstico a metodologia que permite a quantificação, é uma ferramenta útil na avaliação do tratamento e prognóstico. É tecnologia de ponta associada a robustez e maior sensibilidade na execução de uma técnica com especificidade de 99,99%!**

Em pequenos animais a ocorrência de doenças imunossupressoras como Neoplasias, Leishmaniose, FIV e FeLV predispõe à instalação e desenvolvimento

da doença em todas as espécies. Além das doenças de base supracitadas, vale ressaltar que a erliquiose pode ainda acometer o indivíduo em sinergismo como outras hemoparasitoses como Mycoplasmoses, Babesioses, Anaplasmoses, Tripanosomíase, Leishmaniose, Cytauxzoonose e Hepatozoonose, sendo importante considerá-las como possíveis diagnósticos associados ou mesmo diferenciais. Laboratorialmente provas sorológicas, pesquisa direta e testes biomoleculares estão disponíveis para complementar o diagnóstico e confirmar ou descartar outras doenças.

*Fontes: Texto adaptado de ALMOSNY, N. R. P.; ALMEIDA, L. E.; MOREIRA, N. S. & MASSARD, C. L. Erliquiose clínica em gato (Feliscatus). Rev Bras. de Ciên. Vet. .5 (2) :82-83, 1998. / ALMOSNY, N. R. P.; MASSARD, C. L. Erliquiose felina. Revista Clínica Veterinária. 23. 30-32, 1990 / COUTO, C.G. Doenças Rickettsiais In: BIRCHARD, SHERDING, Manual Saunders: Clínica de pequenos animais. Ed. Roca: 139-42, 1998 / DAVOUST, B.; PARZY, D.; VIDOR, E.; HASSELOT, N.; MARTET, G. Ehrlichiose canina experimental : étude clinique et thérapeutique. Rev. Méd. Vét. 167: 33-40, 1991. / DAVOUST, B. - Canine ehrlichiosis. Point Vét., 25 (151): 43-51, 1993. / ETTINGER, S. J. FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária. 4 ed. São Paulo: Editora Manole. 1992. / GHORBEL, A.; CADORE, J.L.; CLERC, B.; BOUATTOR, A.; VIDOR, E. SAYN, M.J. Efficacy of oxytetracycline in dog ehrlichiosis treatment. Revue Med. Vet., 144 (2): 109-14, 1993. / GREGORY, C.; FORRESTER, S O. Ehrlichia canis, E. equi, E. risticii infections. In: GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. Philadelphia: W.B. Saunders: 404-14, 1990. / TAVARES, C.A.P. Erliquiose em pequenos animais: revisão de literatura. Nov.2012*

Figuras 1 e 2: Gato com carrapato.  
Fonte: oskarmaxim.blogspot





# COMPARAÇÃO DE PCR TEMPO REAL E PCR CONVENCIONAL PARA DETECÇÃO DE *LEISHMANIA INFANTUM*

## *Introdução*

A leishmaniose visceral canina (LVC) compreende um importante problema de saúde pública, uma vez que é frequentemente fatal se não for tratada. Consequentemente, novos métodos de diagnóstico que promovam a identificação precoce da doença são necessários. O diagnóstico da LVC pode ser realizado por exames parasitológicos diretos que podem produzir resultados falso-negativos, quer devido ao baixo número de *Leishmania* spp. em amostras clínicas (medula óssea e gânglios linfáticos), ou porque identificação morfológica é complexa. Além disso, tais métodos são invasivos. Técnicas sorológicas convencionais são passíveis de reactividade cruzada com outras doenças parasitárias, especialmente grave quando se utiliza apenas um método sorológico isolado – por exemplo apenas ELISA. No entanto, métodos sorológicos são ainda a primeira ferramenta diagnóstica a ser empregada nos levantamentos epidemiológicos ou em casos de animais saudáveis apenas para fins pré- vacinais. O diagnóstico precoce é importante para a prevenção de danos graves ou mesmo morte dos animais doentes. Desde a produção do primeiro instrumento termociclador em 1987, técnicas de biologia molecular têm prometido uma revolução na detecção de agentes patogénicos em amostras clínicas. Neste contexto, os métodos moleculares, essencialmente baseados em PCR, tornaram-se ferramentas indispensáveis para o diagnóstico de doenças infecciosas. Alta especificidade, a rápida identificação e quantificação do parasita, a possibilidade de aplicação direta em espécimes clínicos, produzem resultados confiáveis em poucas horas e são inegáveis vantagens de PCR Real Time (qPCR), quando comparado aos métodos de

diagnóstico por PCR convencional. Nos últimos anos, a técnica de reação em cadeia da polimerase técnica (PCR) tem avançado significativamente no sentido de expandir a sua utilização e versatilidade, trabalhando agora com a quantificação do agente em tempo real (qPCR). Dados da literatura mostram que ambos os métodos apresentam características interessantes para o diagnóstico da leishmaniose visceral. Os benefícios de qPCR REAL TIME em relação ao PCR convencional incluem velocidade, reprodutibilidade e capacidade quantitativa. Em adição às vantagens operacionais, qPCR é mais sensível e reprodutível e pode substituir PCR convencional nas rotinas de diagnóstico. Além disso, a utilização de uma técnica que possui elevada sensibilidade de diagnóstico, e pode monitorizar a terapia e prevenção de recaídas promove perspectivas mais amplas para o controle da doença.

## *Métodos de Amplificação do DNA*

### *PCR Convencional – cPCR*

Nas últimas duas décadas, a técnica PCR convencional (cPCR) foi modificada para expandir seu uso e versatilidade. A possibilidade de utilizar na mesma reação, um par de iniciadores com a amplificação simultânea de múltiplas sequências de DNA alvo, é chamado multiplex-PCR. Assim, mais do que uma sequência de DNA pode ser amplificado (multiplicada) pelo mesmo processo. Nested-PCR utiliza dois pares de iniciadores para a amplificação de uma sequência de DNA interna no alvo seleccionado. O primeiro par é usado para uma reação inicial, e os produtos são então, submetido a uma segunda amplificação com um outro par de iniciadores. Esta técnica apresenta maior sensibilidade e especificidade. No

entanto, também revela um aumento do risco de contaminação do produto amplificado a partir da primeira reação. Embora cnPCR e suas variações são sensíveis e altamente específicos, eles têm algumas limitações, incluindo a exigência de gel de agarose ou de poliacrilamida para electroforese, risco de contaminação, a falta de capacidade quantitativa, e a utilização de reagentes tais como brometo de etídio, que é prejudicial para a saúde do operador. O surgimento de uma nova tecnologia, qPCR (PCR REAL TIME), enfatizou essas limitações.

### *PCR em Tempo Real – qPCR*

PCR em tempo real foi desenvolvido em 1992, como um aperfeiçoamento da PCR original criada por Kary Mullis, e representa um avanço significativo na biotecnológica para o diagnóstico de doenças infecciosas e parasitárias. O sistema baseia-se na utilização de corantes fluorescentes ou sondas que permitem o controle do produto amplificado. Um corante é amplamente empregue e se liga não especificamente as cadeias duplas de DNA geradas durante a amplificação. Outra forma de gerar a fluorescência é a utilização de uma sonda especificamente dirigida para uma sequência de região interna que tem de ser amplificado, um exemplo desse sistema é a sonda TaqMan. Durante a amplificação o TaqMan é degradado e então ocorre a libertação da luz. A análise da emissão de luz é feita por um detector de sinal de luz que cria um gráfico com a absorção obtida após cada sonda de PCR, o sinal gerado reflecte a quantidade de produto formado. Os resultados qPCR são registrados através de sistemas interligados de computação gráfica gerados no termociclador. Basicamente, quatro tipos de análises são realizadas: curva de amplificação,

curva de dissociação, espectro e do componente . Os quatro parâmetros devem ser consideradas em conjunto. Padrões positivos e controles negativos devem ser incluídos em todas as reacções. A qPCR permite, basicamente, a realização de quatro tipos de testes: quantificação absoluta, quantificação relativa, análise de resolução de fusão elevado e discriminação alélica, que apresentam aplicações diferentes e variadas. Como uma ferramenta de diagnóstico, a quantificação absoluta pode ser usada para a detecção de infecção e quantificação do seu agente etiológico. O teste para a quantificação absoluta baseia-se na análise da curva padrão. Estas características de qPCR permitem a eliminação de uma fase (preparação de electroforese em gel) onde geralmente ocorrem as contaminações no método convencional de PCR .

### *cPCR e qPCR para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina*

Em 2002, um trabalho que avaliava dois métodos de cPCR encontraram uma sensibilidade de 100% para o sistema de RV1 / RV2 no sangue periférico de cães doentes . Os resultados animaram os pesquisadores a realizar um estudo sobre a capacidade de cPCR (RV1 / RV2) para detectar LVC em amostras diferentes (biópsias do fígado, baço e gânglios linfáticos) de cães . Os autores observaram que a maioria dos animais que foram positivos pela microscopia também foram positivos pela PCR. Tal descoberta pode, possivelmente, ser associado com o tipo da amostra em estudo ou com uma alta carga parasitária em animais com sintomas clássicos da doença. A sensibilidade relatada para o estudo realizado em 2002, também foi determinada por amostras de sangue de

cães com sintomas múltiplos de LVC. Em um estudo mais atual, com o objetivo de avaliar cPCR na identificação do agente etiológico da LVC em cães, foram empregadas amostras de baço, fígado, rins e gânglios linfáticos de 25 animais sintomáticos (grupo caso) e 15 animais assintomáticos. Os cães eram de diferentes raças, sexos e idades, e foram de Teresina, Piauí, Brasil. Todos os animais do grupo caso e dois controles teste deram positivos em amostras de fígado , baço ou linfonodos por cPCR. A conclusão foi que , os resultados foram mais positivos por cPCR em cães soropositivos sintomáticos e cPCR é mais preciso do que a histopatologia convencional na detecção do parasita *Leishmania* . Este estudo e varios outros apos este , provam que o método de PCR convencional nao é adequado para o diagnóstico inicial em populações , ou seja animais assintomáticos especialmente . Os estudos mencionados mostraram ainda uma baixa reprodutibilidade de cPCR para o diagnóstico de LVC em amostras de sangue do cão. Outra possibilidade é que a eficiência da técnica está associada com a carga de parasitas, ou seja, os animais com uma elevada carga de parasita iriam apresentar resultados positivos usando a técnica cPCR. Segundo alguns autores, o uso de PCR em tempo real com iniciadores derivados do sistema de RV1 / RV2 no sangue e medula óssea revelou uma correlação adequada entre a carga parasitária e o estado clínico do paciente, que permitem concluir que a quantificação do parasita é necessária para uma leitura precisa dos resultados . Consequentemente, para verificar o andamento do PCR em tempo real para o diagnóstico de LVC, os pesquisadores compararam o sistema cPCR com qPCR na medula óssea de cães . Eles

encontraram 54 e 84% de resultados positivos, respectivamente, para cPCR e qPCR (29). O que mostra claramente como o PCR por TEMPO REAL é superior em sensibilidade. As amostras que deram negativo para cPCR mostraram uma carga parasitária de menos de 30 parasitas / mL de medula óssea, ou seja , no PCR convencional o paciente com menos de 30 parasitas por mL dá resultado negativo, mas no PCR REAL TIME da positivo. Utilizando amostras de sangue periférico a partir de 15 cães que eram positivos para a leishmaniose visceral, a sensibilidade qPCR foi de 100%. O sistema desenvolvido por estes investigadores elucidou também que o uso de sangue como amostra para o diagnóstico em animais sintomáticos é o método menos invasivo e de alta sensibilidade.

### *Considerações finais*

o qPCR já está disponível em vários laboratórios, especialmente no sector privado; no entanto, a interpretação de seus resultados requer novos níveis de conhecimento. Por isso, requer uma equipe treinada para garantir a precisão do método. Em adição às vantagens operacionais, qPCR é uma técnica sensível e reprodutível, que pode substituir cPCR nas rotinas de diagnóstico. O uso da técnica de alta sensibilidade que pode monitorar a terapia e pode prevenir recaídas promove perspectivas mais amplas para o controle da doença.

**Referencias Bibliográficas :**  
*Comparação de PCR em tempo real e de PCR convencional para a detecção de Leishmania (Leishmania) infantum infecção: uma mini-revisão*  
Paiva-Cavalcanti M (1), Regis-da-Silva CG (1), Gomes YM (1)  
(1) Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Recife, Estado de Pernambuco, Brasil.





# DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE E TOXOPLASMOSE POR PCR – REAL TIME

## *Leptorpirose*

De acordo com o Ministério da Saúde (2010) a Leptospirose é uma doença infecciosa febril de início abrupto. O agente etiológico é uma bactéria helicoidal (espiroqueta) aeróbica obrigatória do gênero *Leptospira*, do qual se conhecem atualmente 14 espécies patogênicas, sendo a mais estudada a *L. interrogans*. Dentre os fatores ligados ao agente etiológico que favorecem a persistência dos focos de leptospirose, deve-se ressaltar a capacidade de sobrevivência no meio ambiente (até 180 dias) e à ampla variedade de animais suscetíveis que podem hospedar o microrganismo. O principal reservatório são os roedores, entretanto outros importantes reservatórios são: caninos, suínos, bovinos, equinos, ovinos e caprinos.

Na fase precoce, as leptospirosas podem ser visualizadas no sangue, já na fase tardia podem ser encontradas na urina. A detecção pode ser por meio de exame direto, de cultura em meios apropriados, exames sorológicos e soroglutinação. Entretanto, são notórias as falhas em decorrência da possibilidade de reações cruzadas com outros microorganismos. Sendo assim, para evitar “falsos-positivos” seria necessário realizar exames de contraprova, como o exame parasitológico direto e a reação em cadeia pela polimerase (PCR, na sigla em inglês). Nesse caso, a mais eficiente metodologia é a PCR em tempo Real (qPCR). Diversos estudos já demonstraram que, devido à elevada sensibilidade do qPCR, é possível desmascarar “falsos-positivos”, como também a detecção de patógenos em animais que haviam apresentado resultados negativos à sorologia, elucidando, da mesma forma, os “falsos-negativos”. O PCR em tempo real é um exame imprescindível e muito sensível porque ele detecta especificamente a presença do DNA do parasita.

## *Aspectos Clínicos*

**Área Rural:** dentre os animais de produção, explorados em ecossistemas rurais, as manifestações clínicas mais frequentes atingem a esfera reprodutiva, incluindo o abortamento, usualmente no terço final da gestação, alta mortalidade neonatal e redução na produção de leite. Além disso, já foi demonstrado que a Leptospirose pode ser responsável por surtos de uveítes (inflamações oculares) em rebanhos eqüinos, caprinos e ovinos.

**Área Urbana:** Dentre os animais de companhia mantidos em áreas urbanas,

a leptospirose pode acometer o cão doméstico, provocando quadros febris com sinais variáveis de hemorragias, icterícia e uremia com alto grau de letalidade e óbito decorrente das insuficiências hepática e renal.

## *Diagnóstico Laboratorial*

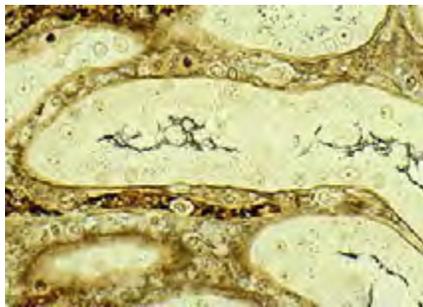
Através de exames complementares podem se chegar ao diagnóstico da doença. Com isso nós do TECSA Laboratórios com o objetivo de auxiliar o clínico em suas decisões disponibilizamos uma série de exames.

### EXAMES REALIZADOS PELO TECSA LABORATÓRIOS

CÓD	EXAME	PRAZO/ DIAS	MATERIAL
81	MÉTODO DE MICROAGLUTINAÇÃO	2	TUBO TAMPA VERMELHA
376	PESQUISA DE CAMPO ESCURO	2	URINA
785	PCR REAL TIME QUALITATIVO	7	SANGUE EM EDTA, URINA OU SORO
786	PCR REAL TIME QUANTITATIVO	7	SANGUE EM EDTA, URINA OU SORO
526	PERFIL DIAGNÓSTICO COMPLETO	2	TUBO TAMPA VERMELHA, ROXA E URINA

**Toxoplasmose**

A Toxoplasmose é uma enfermidade causada por um protozoário chamado *Toxoplasma gondii*. É uma doença infecciosa e/ou congênita que acomete animais de produção (suínos, caprinos, bovinos, entre outros) e de estimação (principalmente gatos). Similarmente à Leptospirose é uma enfermidade que atinge a esfera reprodutiva, gerando abortos e nascimento de fetos mal formados, inclusive em seres humanos. Outra similaridade da Toxoplasmose com a Leptospirose é ser frequentemente causadora de surtos de uveítes em diversas espécies animais.

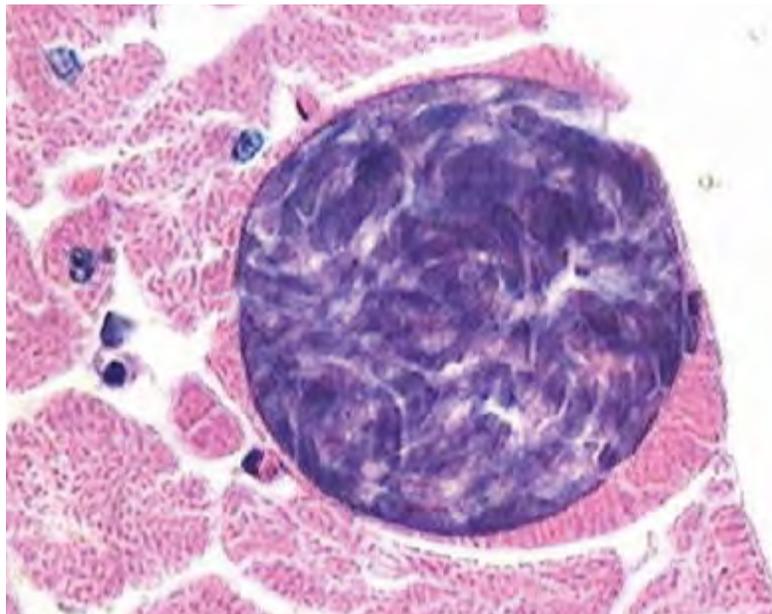


**Figura 1:** As espiroquetas de *Leptospira sp.* aparecem como linhas escuras no interior de túbulos renais e/ou lúmen. Fonte: *an Overview of Canine Leptospirosis*, [sweetshimas.com](http://sweetshimas.com).

Ocasionalmente, tais incidências podem gerar dúvidas e confusões durante o diagnóstico veterinário. Sendo assim, a qPCR, mais uma vez se destaca dentre tantas outras metodologias de diagnóstico, pois é a mais precisa na confirmação definitiva da presença do patógeno, seja ele bacteriano ou protozoário, como em casos de surtos de uveítes.

**Aspectos Clínicos**

Casos benignos são descritos com quadros febris e discreto aumento ganglionar, até casos de grave comprometimento do sistema nervoso central, uveítes oculares, o aborto e mortalidade neonatal. A infecção é principalmente adquirida pela ingestão de cistos de *T. gondii* através de consumo de carne crua ou através de oocistos em alimentos contaminados por fezes de hospedeiros.



**Figura 2:** Cisto tecidual contendo bradizoítos. Fonte: *Toxoplasma gondii*, [www.ufrgs.br](http://www.ufrgs.br).

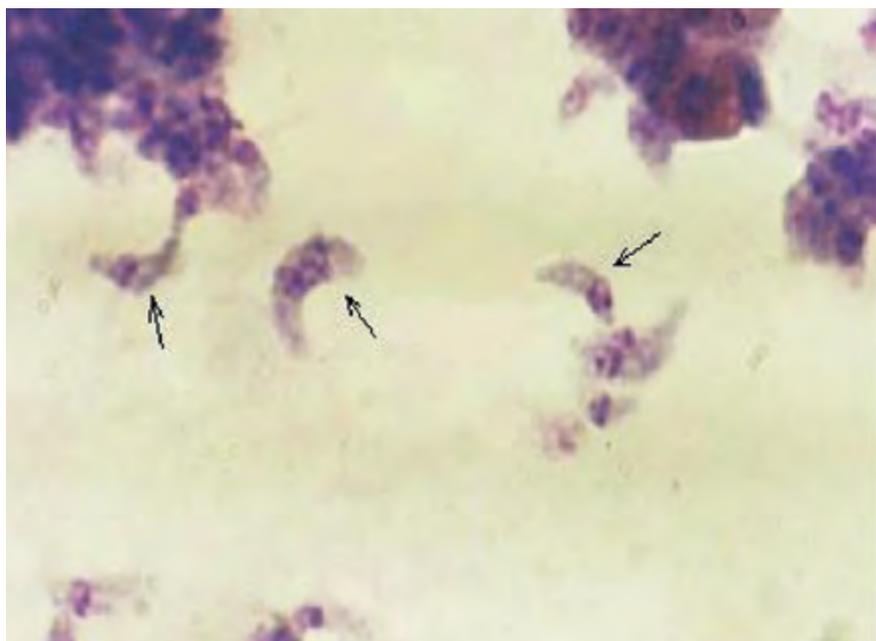
Existe uma elevada soroprevalência de *T. gondii* nos gatos, mas a doença clínica é rara, pois é um ciclo enteroepitelial e não costuma produzir sinais clínicos além de corrimento ocular e fezes pastosas a líquidas.

O controle de tais enfermidades passa, necessariamente, pelo diagnóstico preciso. Em casos de animais domésticos a fim de evitar contaminações aos proprietários, e no caso de animais de produção, a partir do número de reativos em cada rebanho,

avalia-se a conveniência de utilização de medidas sanitárias e de controle, tais como vacinação e tratamentos como antiparasitários, a fim de evitar maiores perdas econômicas para o criador.

**Diagnóstico Laboratorial**

O diagnóstico se baseia na associação da sintomatologia clínica com os testes realizados no TECSA laboratórios. Possuímos o maior menu de exames do Brasil, e os seguintes exames são oferecidos com os respectivos prazos de entrega:



**Figura:** Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (setas). Fonte: *Toxoplasma gondii*, [www.ufrgs.br](http://www.ufrgs.br).

## Setor Molecular Services



## PAINÉIS FACILITADORES - CANINOS

CÓD.  
911

## EXAME

**Painel Diarreia Canino – Real Time PCR qualitativo**

Coronavírus canino (CCoV), *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.*, Parvovírus canino 2 (CPV-2) e Vírus da cinomose canina (CDV)

## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swab retal devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de alguns patógenos nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos para algum dos patógenos descritos no painel.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
905

## EXAME

**Painel Hemoparasitas Canino Completo – Real Time PCR qualitativo**

*Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, *Leishmania infantum (chagasi)* e *Anaplasma platys*

## MATERIAL

**Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
793

## EXAME

**Painel Hemoparasitas Canino Básico - Real Time PCR qualitativo**

*Ehrlichia canis* e *Babesia canis*

## MATERIAL

**Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

## PRAZO

**5 dias úteis**

**CÓD.  
904****EXAME****Painel Neurológico Canino - Real Time PCR qualitativo**

Cinomose canina, *Cryptococcus spp. (neoformans/gatti)*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*

**MATERIAL****LCR + urina**

Obs.: Enviar refrigerado e em tubos separados (tubos de tampa vermelha ou tubos vazios e estéreis; sem meios de transporte). A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Para o envio de mais de uma amostra para o mesmo exame, enviar em tubos separados e inserir na requisição: **Código do exame + Pool + Nº amostras (tipos)**.
- Na cinomose canina, o RNA viral pode estar ausente no LCR durante o quadro neurológico crônico. Em contrapartida, o vírus é eliminado na urina por longos períodos.

**PRAZO****5 dias úteis****PAINÉIS FACILITADORES - FELINOS****CÓD.  
912****EXAME****Painel Anemia Felina Completo - Real Time PCR qualitativo**

Vírus da leucemia felina (FeLV), Vírus da imunodeficiência felina (FIV), *Mycoplasma haemofelis*, Coronavírus felino (FCoV)

**MATERIAL****Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

**PRAZO****5 dias úteis****CÓD.  
913****EXAME****Painel Anemia Felina Básico - Real Time PCR qualitativo**

Vírus da leucemia felina (FeLV), Vírus da imunodeficiência felina (FIV)

**MATERIAL****Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

**PRAZO****5 dias úteis**

**CÓD.**  
**914**

**EXAME**

**Painel FeLV Plus (RNA e DNA) – Real Time PCR qualitativo**

Vírus da leucemia felina (FeLV) – Detecção de RNA viral (vírus circulante) e DNA proviral (provírus; integração ao genoma hospedeiro)

**MATERIAL**

**Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A integração do DNA proviral (inserção do genoma viral no genoma do animal infectado) é um importante parâmetro para determinar animais persistentemente infectados.
- Em alguns estágios da infecção por FeLV, o RNA viral (vírus circulante) ou DNA proviral podem estar ausentes. Dessa forma, a detecção simultânea de RNA viral e DNA proviral é importante para diagnóstico definitivo.
- A presença/ausência de RNA viral ou DNA proviral também é utilizada para determinar estágio infeccioso de FeLV e eliminação viral pelo animal infectado:

Infecção	RNA viral (sangue)	DNA proviral (sangue)	Eliminação viral
Progressiva	Positivo	Positivo	Positivo
Regressiva	Negativo	Positivo	Negativo
Abortiva	Negativo	Negativo	Negativo
Focal	Variável	Variável	Variável

As infecções abortivas e focais por FeLV são incomuns.

- Devido à possibilidade de coinfeção com FIV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO**

**5 dias úteis**

**CÓD.**  
**915**

**EXAME**

**Painel FIV Plus (RNA e DNA) – Real Time PCR qualitativo**

Vírus da imunodeficiência felina (FIV) – Detecção de RNA viral (vírus circulante) e DNA proviral (provírus; integração ao genoma hospedeiro)

**MATERIAL**

**Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A integração do DNA proviral (inserção do genoma viral no genoma do animal infectado) é um importante parâmetro para determinar animais persistentemente infectados.
- Em alguns estágios da infecção por FIV, o RNA viral (vírus circulante) ou DNA proviral podem estar ausentes. Dessa forma, a detecção simultânea de RNA viral e DNA proviral é importante para diagnóstico definitivo.

A presença/ausência de RNA viral ou DNA proviral também é utilizada para auxiliar na determinação de estágio infeccioso de FIV:

Infecção	RNA viral (sangue)	DNA proviral (sangue)
Aguda	Positivo	Variável
Assintomática	Variável	Positivo
Terminal (AIDS-like)	Positivo	Positivo

Devido à possibilidade de coinfeção com FeLV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**

**CÓD.  
916****EXAME****Painel Diarreia Felina - Real Time PCR qualitativo**

Coronavírus felino (FCoV), *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Toxoplasma gondii*, *Tritrichomonas foetus*, Vírus da panleucopenia felina (FPV; parvovírus felino)

**MATERIAL****Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swab retal devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de alguns patógenos nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos para algum dos patógenos descritos no painel.

**PRAZO****5 dias úteis****CÓD.  
917****EXAME****Painel Neurológico Felino – Real Time PCR qualitativo**

Coronavírus felino (FCoV), *Cryptococcus* spp. (neoformans/gatti), *Toxoplasma gondii*, Vírus da leucemia felina (FeLV), Vírus da imunodeficiência felina (FIV), Vírus da panleucopenia felina (FPV; parvovírus felino)

**MATERIAL****LCR + sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado. As amostras devem ser coletadas preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- Enviar em tubos separados (LCR: tubo vazio e estéril com tampa; sangue total: tubo tampa roxa) e inserir na requisição: **Código do exame + Pool + N° amostras (tipos)**.

**PRAZO****5 dias úteis****CÓD.  
906****EXAME****Painel Respiratório Felino Completo - Real Time PCR qualitativo**

Herpesvírus felino (FeHV), Calicivírus felino (FCV), *Bordetella bronchiseptica*, *Chlamydophila felis* e *Mycoplasma felis*

**MATERIAL**

**Swab profundo de faringe** (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente) + **swab conjuntival** (remover debris/secreções e após, esfregar o swab dentro da pálpebra): ambos no mesmo tubo.

Obs.: Enviar refrigerado. Coletar os swabs em mesmo tubo. As amostras devem ser coletadas preferencialmente antes de iniciar o tratamento. Favor enviar os swabs sem adição de meios de transporte, em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril.

- Ao proceder com a coleta do swab de faringe, atenção especial para prevenir mordidas e ingestão de parte do swab.

**PRAZO****5 dias úteis**

**CÓD.**  
**907****EXAME****Painel Respiratório Felino Básico - Real Time PCR qualitativo**

Herpesvírus felino (FeHV) e Calicivírus felino (FCV)

**MATERIAL****Swab profundo de faringe** (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente) + **swab conjuntival** (remover debris/secreções e após, esfregar o swab dentro da pálpebra): ambos no mesmo tubo.

Obs.: Enviar refrigerado. Coletar os swabs em mesmo tubo. Favor enviar os swabs sem adição de meios de transporte, em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril.

- Ao proceder com a coleta do swab de faringe, atenção especial para prevenir mordidas e ingestão de parte do swab.

**PRAZO****5 dias úteis****EXAMES INDIVIDUAIS - REAL TIME PCR****CÓD.**  
**873****EXAME****Anaplasma platys - Real Time PCR qualitativo****ESPÉCIES:****MATERIAL****Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, baço, LCR (quadro neurológico), líquido sinovial ou carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.

**PRAZO****5 dias úteis****CÓD.**  
**874****EXAME****Anaplasma platys - Real Time PCR quantitativo****ESPÉCIES:****MATERIAL****Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, baço, LCR (quadro neurológico), líquido sinovial ou carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO****5 dias úteis**

CÓD.  
633

## EXAME

**Babesia canis - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, LCR (quadro neurológico), líquido sinovial, carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- A parasitemia (patógeno em corrente sanguínea) inicia entre 4-21 dias pós-infecção.
- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.
- **Em infecções crônicas**, a detecção do DNA do patógeno nem sempre é possível. Nessas situações, sugere-se realizar também a investigação sorológica.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
769

## EXAME

**Babesia canis - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, LCR (quadro neurológico), líquido sinovial, carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- A parasitemia (patógeno em corrente sanguínea) inicia entre 4-21 dias pós-infecção.
- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.
- **Em infecções crônicas**, a detecção do DNA do patógeno nem sempre é possível. Nessas situações, sugere-se realizar também a investigação sorológica.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
875

## EXAME

**Bordetella bronchiseptica - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Swab profundo de faringe (com material orgânico visível no swab):** favor esfregar firmemente.**Swab conjuntival:** remover debris/secreções antes e após, esfregar dentro da pálpebra.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início da antibioticoterapia.

## PRAZO

**5 dias úteis**

CÓD.  
876

## EXAME

**Bordetella bronchiseptica - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Swab profundo de faringe** (com material orgânico visível no swab): favor esfregar firmemente.  
**Swab conjuntival:** remover debris/secreções antes e após, esfregar dentro da pálpebra.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril.

- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
728

## EXAME

**Calicivírus felino (FCV) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Coriza:** swab de orofaringe, swab conjuntival ou swab nasal (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente).

**Outras amostras possíveis:** efusão abdominal ou pleural, pulmão (sem formol).

**Bucoestomatite:** swab de orofaringe coletado a partir das lesões.

**Variantes sistêmicas hipervirulentas:** existe viremia para essas variantes. Adequado amostra de sangue total (EDTA) ou raspado cutâneo (caso ocorra lesões cutâneas).

**Status de animais assintomáticos e monitoramento após recuperação:** swab de orofaringe coletado na região de tonsilas.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A escova citológica pode ser utilizada em substituição ao swab.

- 8% dos gatos são portadores assintomáticos. Essa razão deve ser considerada na interpretação do resultado. O nível de assintomáticos pode ser ainda maior em animais que vive em grupos (especialmente em abrigos/gatis).

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
918

## EXAME

**Calicivírus felino (FCV) - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Coriza:** swab de orofaringe, swab conjuntival ou swab nasal (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente).

**Outras amostras possíveis:** efusão abdominal ou pleural, pulmão (sem formol).

**Bucoestomatite:** swab de orofaringe coletado a partir das lesões.

**Variantes sistêmicas hipervirulentas:** existe viremia para essas variantes. Adequado amostra de sangue total (EDTA) ou raspado cutâneo (caso ocorra lesões cutâneas).

**Status de animais assintomáticos e monitoramento após recuperação:** swab de orofaringe coletado na região de tonsilas.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A escova citológica pode ser utilizada em substituição ao swab.

- 8% dos gatos são portadores assintomáticos. Essa razão deve ser considerada na interpretação do resultado. O nível de assintomáticos pode ser ainda maior em animais que vive em grupos (especialmente em abrigos/gatis).
- A quantificação do RNA viral é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
729

## EXAME

***Chlamydomphila felis (Chlamydia psittaci)* - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Conjuntivite unilateral ou bilateral, frequentemente com quemose (edema de conjuntiva):**

swab nasal, swab conjuntival ou swab de faringe (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente).

**AVES:** swab de cloaca ou fezes frescas.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início da antibioticoterapia.

- Para felinos, é comum coinfeção com vírus e alguns gatos são portadores crônicos.
- Pássaros infectados com *Chlamydia psittaci* podem permanecer assintomáticos por longos períodos. A eliminação fecal do patógeno começa 3 dias após infecção e pode persistir intermitentemente por meses.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
919

## EXAME

***Chlamydomphila felis (Chlamydia psittaci)* - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Conjuntivite unilateral ou bilateral, frequentemente com quemose (edema de conjuntiva):**

swab nasal, swab conjuntival ou swab de faringe (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente).

**AVES:** swab de cloaca ou fezes frescas.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início da antibioticoterapia.

- Para felinos, é comum coinfeção com vírus e alguns gatos são portadores crônicos.
- Pássaros infectados com *Chlamydia psittaci* podem permanecer assintomáticos por longos períodos. A eliminação fecal do patógeno começa 3 dias após infecção e pode persistir intermitentemente por meses.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
920

## EXAME

**Coronavírus canino (CCoV) – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do cão com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.
- Atenção para possibilidade de coinfeção com Giardia e parvovírus canino.
- Como o Coronavírus canino é frequentemente detectado em grupos de cães, o contexto epidemiológico e clínico deve ser considerado na interpretação.
- Para haver maior confiabilidade da correlação entre diagnóstico e quadro clínico, é necessário a quantificação de carga viral excretada (fezes).

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
921

## EXAME

**Coronavírus canino (CCoV) – Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do cão com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.
- Atenção para possibilidade de coinfeção com Giardia e parvovírus canino.
- Como o Coronavírus canino é frequentemente detectado em grupos de cães, o contexto epidemiológico e clínico deve ser considerado na interpretação.
- **Resultado positivo (quantificação):**
  - **Carga viral baixa:** frequentemente observada para portador assintomático.
  - **Carga viral média ou alta:** compatível com coronavirose canina.
- A quantificação do RNA viral também é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
730

## EXAME

**Coronavírus felino (FCoV) – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Conjuntivite unilateral ou bilateral, frequentemente com quemose (edema de conjuntiva):****Animais assintomáticos:** fezes frescas ou swab retal**Peritonite infecciosa felina (PIF) – Forma seca (não efusiva):** LCR (sinais neurológicos), humor aquoso (sinais oftalmológicos), punção de rim ou fígado, sangue total em EDTA (coletar o sangue preferencialmente nos picos de hipertermia).**Peritonite infecciosa felina (PIF) – forma úmida (efusiva):** fluido abdominal ou torácico (tubo EDTA).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- A detecção qualitativa de FCoV em fezes frescas confirma a infecção com FCoV, mas não é conclusivo para PIF. Serve como identificação de felinos transmissores do vírus.
- Como a eliminação viral nas fezes frescas pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.

## PRAZO

**5 dias úteis**

CÓD.  
782

## EXAME

**Coronavírus felino (FCov) – Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Animais assintomáticos:** fezes frescas ou swab retal**Peritonite infecciosa felina (PIF) – Forma seca (não efusiva):** LCR (sinais neurológicos), humor aquoso (sinais oftalmológicos), punção de rim ou fígado, sangue total em EDTA (coletar o sangue preferencialmente nos picos de hipertermia).**Peritonite infecciosa felina (PIF) – forma úmida (efusiva):** fluido abdominal ou torácico (tubo EDTA).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- A quantificação do RNA viral é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.
- A eliminação de elevada carga viral nas fezes frescas é sugestiva de infecção pela variante entérica do FCoV.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
900

## EXAME

***Cryptococcus spp. (neoformans/gatti)* - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Síndrome neurológica:** LCR**Síndrome ocular/respiratória:** swab conjuntival, swab de faringe, swab nasal ou lavado bronquiolar.**Síndrome cutânea:** swab de lesão cutânea, exsudato de lesão cutânea, aspirado de tecido ou fragmento de pele.**Fezes frescas, swab de fezes frescas.**

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte

- A criptococose é cerca de 7 a 10 vezes mais comum em gatos do que em cães e no primeiro, está associada principalmente à doenças imunossupressoras como as infecções virais por FIV e FeLV.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
901

## EXAME

***Cryptococcus spp. (neoformans/gatti)* - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Síndrome neurológica:** LCR**Síndrome ocular/respiratória:** swab conjuntival, swab de faringe, swab nasal ou lavado bronquiolar.**Síndrome cutânea:** swab de lesão cutânea, exsudato de lesão cutânea, aspirado de tecido ou fragmento de pele.**Fezes frescas, swab de fezes frescas.**

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.

- A criptococose é cerca de 7 a 10 vezes mais comum em gatos do que em cães e no primeiro, está associada principalmente à doenças imunossupressoras como as infecções virais por FIV e FeLV.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
898

## EXAME

***Cryptosporidium* spp. – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Cryptosporidium* spp. nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com *Giardia* em cães e gatos, e coinfeção com *Tritrichomonas foetus* em gatos.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
922

## EXAME

***Cryptosporidium* spp. – Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Cryptosporidium* spp. nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com *Giardia* em cães e gatos, e coinfeção com *Tritrichomonas foetus* em gatos.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
615

## EXAME

***Ehrlichia canis* - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, baço (sem formol), LCR (quadro neurológico), líquido sinovial, carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- A detecção do material genético do patógeno pode ser realizada 4-10 dias pós-infecção.
- O diagnóstico a partir de sangue total é mais recomendado para a **fase aguda** da doença, uma vez que em estágios mais tardios, o patógeno frequentemente está ausente no sangue e o resultado negativo não exclui a infecção.
- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.
- **Para fase crônica**, as amostras mais recomendadas são medula óssea e baço.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
771

## EXAME

***Ehrlichia canis* - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, baço (sem formol), LCR (quadro neurológico), líquido sinovial, carrapato.**

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- A detecção do material genético do patógeno pode ser realizada 4-10 dias pós-infecção.
- O diagnóstico a partir de sangue total é mais recomendado para a **fase aguda** da doença, uma vez que em estágios mais tardios, o patógeno frequentemente está ausente no sangue e o resultado negativo não exclui a infecção.
- A coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda (após puncionar, comprimir o local ao redor e coletar as primeiras gotas) aumenta a chance de detecção do DNA do patógeno.
- **Para fase crônica**, as amostras mais recomendadas são medula óssea e baço.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
731

## EXAME

***Giardia* spp. – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Giardia* spp. nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. **Coletar os swabs em mesmo tubo** e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com *Cryptosporidium* spp. em cães e gatos, e coinfeção com *Tritrichomonas foetus* em gatos.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
784

## EXAME

***Giardia* spp. – Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Cryptosporidium* spp. nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com *Cryptosporidium* spp. em cães e gatos, e coinfeção com *Tritrichomonas foetus* em gatos.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
871

## EXAME

**Herpesvírus felino (FHV-1) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais oftalmológicos:** Swab conjuntival ou escova citológica com células conjuntivais (friccionar o swab ou escova citológica na conjuntiva palpebral inferior).

**Coriza:** Swab conjuntival, swab nasal, swab de orofaringe (coleta de região de tonsilas), efusão pleural ou pulmão (sem formol).

**Abortos, desordens reprodutivas:** Swab vaginal, swab prepucial, placenta, esperma ou órgãos de natimorto (sem formol).

**Determinação de status de portadores assintomáticos:** Swab de orofaringe ou escova citológica com células de orofaringe (friccionar o swab ou escova citológica na região de tonsilas).

Obs.: Enviar refrigerado. O material plástico (swab ou escova citológica) contendo a amostra deve ser enviado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril, sem meios de transporte.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
872

## EXAME

**Herpesvírus felino (FHV-1) - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais oftalmológicos:** Swab conjuntival ou escova citológica com células conjuntivais (friccionar o swab ou escova citológica na conjuntiva palpebral inferior).

**Coriza:** Swab conjuntival, swab nasal, swab de orofaringe (coleta de região de tonsilas), efusão pleural ou pulmão (sem formol).

**Abortos, desordens reprodutivas:** Swab vaginal, swab prepucial, placenta, esperma ou órgãos de natimorto (sem formol).

**Determinação de status de portadores assintomáticos:** Swab de orofaringe ou escova citológica com células de orofaringe (friccionar o swab ou escova citológica na região de tonsilas).

Obs.: Enviar refrigerado. O material plástico (swab ou escova citológica) contendo a amostra deve ser enviado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril, sem meios de transporte.

- A quantificação do DNA viral é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
483

## EXAME

**Leishmania infantum (chagasi) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, aspirado de linfonodo, fragmento de pele (ponta de orelha), punção de baço.**

**Suspeita clínica (em ordem de indicação):** medula óssea com EDTA, aspirado de linfonodo, fragmento de pele (ponta de orelha), sangue total com EDTA.

**Animal saudável:** medula óssea com EDTA (preferencialmente).

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- O sangue é a primeira amostra a se tornar negativa. As formas circulantes são detectáveis apenas durante curto intervalo de tempo.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
680

## EXAME

***Leishmania infantum (chagasi)* - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total com EDTA, medula óssea com EDTA, aspirado de linfonodo, fragmento de pele (ponta de orelha), punção de baço.****Suspeita clínica (em ordem de indicação):** medula óssea com EDTA, aspirado de linfonodo, fragmento de pele (ponta de orelha), sangue total com EDTA.**Animal saudável:** medula óssea com EDTA (preferencialmente).**Monitoramento terapêutico (em ordem de indicação):** medula óssea com EDTA, fragmento de pele (ponta de orelha), sangue total com EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. A amostra deve ser coletada preferencialmente antes de iniciar o tratamento.

- O sangue é a primeira amostra a se tornar negativa. As formas circulantes são detectáveis apenas durante curto intervalo de tempo.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
923

## EXAME

***Mycoplasma felis* - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais oftalmológicos:** swab conjuntival**Coriza, rinosinusite, pneumonia:** swab de orofaringe, swab conjuntival, swab nasal, fluido torácico, lavado broncoalveolar ou pulmão (sem formol), de acordo com os sinais clínicos.  
**Status de animais assintomáticos:** swab de orofaringe (coletar na região de tonsilas).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente), sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início da antibioticoterapia.

- *Mycoplasma felis* é raramente detectado em células conjuntivais de animais assintomáticos.

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
924

## EXAME

***Mycoplasma felis* - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais oftalmológicos:** swab conjuntival**Coriza, rinosinusite, pneumonia:** swab de orofaringe, swab conjuntival, swab nasal, fluido torácico, lavado broncoalveolar ou pulmão (sem formol), de acordo com os sinais clínicos.**Status de animais assintomáticos:** swab de orofaringe (coletar na região de tonsilas).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente), sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início da antibioticoterapia.

- *Mycoplasma felis* é raramente detectado em células conjuntivais de animais assintomáticos.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

<b>CÓD.</b> 547	<b>EXAME</b> <i>Mycoplasma haemofelis</i> – Real Time PCR qualitativo	<b>ESPÉCIES:</b> 
	<b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA, medula óssea em EDTA, punção de baço ou fígado.</b> <b>Monitoramento de eficácia terapêutica:</b> sangue total em EDTA Obs.: Enviar refrigerado.	
	<b>PRAZO</b> <b>5 dias úteis</b>	
<b>CÓD.</b> 774	<b>EXAME</b> <i>Mycoplasma haemofelis</i> – Real Time PCR quantitativo	<b>ESPÉCIES:</b> 
	<b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA, medula óssea em EDTA, punção de baço ou fígado.</b> <b>Monitoramento de eficácia terapêutica:</b> sangue total em EDTA Obs.: Enviar refrigerado. <ul style="list-style-type: none"><li>• A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.</li></ul>	
	<b>PRAZO 5 dias úteis</b>	
<b>CÓD.</b> 902	<b>EXAME</b> <i>Neospora caninum</i> - Real Time PCR qualitativo	<b>ESPÉCIES:</b>  
	<b>MATERIAL</b> <b>Canino:</b> LCR, fezes frescas ou swab retal. <b>Bovino:</b> tecidos de fetos abortados (cérebro e coração), líquido amniótico, LCR de fetos abortados, sangue total com EDTA (bovinos cronicamente infectados), leite ou sêmen. Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.	
	<b>PRAZO 5 dias úteis</b>	
<b>CÓD.</b> 903	<b>EXAME</b> <i>Neospora caninum</i> - Real Time PCR quantitativo	<b>ESPÉCIES:</b>  
	<b>MATERIAL</b> <b>Canino:</b> LCR, fezes frescas ou swab retal. <b>Bovino:</b> tecidos de fetos abortados (cérebro e coração), líquido amniótico, LCR de fetos abortados, sangue total com EDTA (bovinos cronicamente infectados), leite ou sêmen. Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte. <ul style="list-style-type: none"><li>• A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.</li></ul>	
	<b>PRAZO 5 dias úteis</b>	

CÓD.  
925

## EXAME

**Parvovírus canino 2 (CPV-2) – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do cão com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com coronavírus canino.
- Atenção para animais recém-vacinados: resultados positivos para presença do DNA viral podem estar relacionados com a cepa atenuada de CPV-2 utilizada na vacinação.
- Para haver maior confiabilidade da correlação entre diagnóstico e quadro clínico, é necessário a quantificação de carga viral excretada (fezes).

## PRAZO

**5 dias úteis**CÓD.  
926

## EXAME

**Parvovírus canino 2 (CPV-2) – Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do cão com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com coronavírus canino.
- Atenção para animais recém-vacinados: resultados positivos para presença do DNA viral podem estar relacionados com a cepa atenuada de CPV-2 utilizada na vacinação.
- Para haver maior confiabilidade da correlação entre diagnóstico e quadro clínico, é necessário a quantificação de carga viral excretada (fezes).
- Resultado positivo (quantificação):
  - Carga viral baixa: frequentemente observada para portador assintomático ou detecção de cepa vacinal atenuada.
  - Carga viral alta: compatível com parvovirose canina.
  - Carga viral média: frequentemente detectados em casos de coinfeção com coronavírus canino ou parvovirose canina subaguda (duração de sinais clínicos acima de 10 dias). Eventualmente, a carga viral média pode ser compatível com vacinação recente com alto título de cepa vacinal atenuada.
- A quantificação do DNA viral também é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
733

## EXAME

***Toxoplasma gondii* - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais neurológicos:** LCR ou cérebro (post mortem; sem formol).**Abortamento (cães, pequenos ruminantes):** swab vaginal, placenta, líquido amniótico, tecidos fetais (fígado, baço, pulmão, coração, intestino; sem formol).**Sinais respiratórios:** lavado bronquiolar, fluido broncoalveolar, fluido torácico, pulmão (sem formol).**Sinais oftalmológicos (uveíte; comum em gatos):** humor aquoso (tubo simples ou EDTA).**Febre:** sangue total com EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.

**PRAZO 5 dias úteis**

**CÓD.**  
**783**
**EXAME*****Toxoplasma gondii* - Real Time PCR quantitativo****ESPÉCIES:****MATERIAL****Sinais neurológicos:** LCR ou cérebro (post mortem; sem formol).**Abortamento (cães, pequenos ruminantes):** swab vaginal, placenta, líquido amniótico, tecidos fetais (fígado, baço, pulmão, coração, intestino; sem formol).**Sinais respiratórios:** lavado bronquiolar, fluido broncoalveolar, fluido torácico, pulmão (sem formol).**Sinais oftalmológicos (uveíte; comum em gatos):** humor aquoso (tubo simples ou EDTA).**Febre:** sangue total com EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.

- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**
**CÓD.**  
**927**
**EXAME*****Tritrichomonas foetus* – Real Time PCR qualitativo****ESPÉCIES:****MATERIAL****Felino:** Fezes frescas ou swab retal**Bovino:** Raspado prepucial (escarificação da mucosa do prepúcio e do pênis), lavado prepucial, swab prepucial, swab vaginal ou sêmen.

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Tritrichomonas foetus* nas fezes de felinos pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para possibilidade de coinfeção com Giardia.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.

**PRAZO 5 dias úteis**
**CÓD.**  
**928**
**EXAME*****Tritrichomonas foetus* – Real Time PCR quantitativo****ESPÉCIES:****MATERIAL****Felino:** Fezes frescas ou swab retal**Bovino:** Raspado prepucial (escarificação da mucosa do prepúcio e do pênis), lavado prepucial, swab prepucial, swab vaginal ou sêmen.

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Tritrichomonas foetus* nas fezes de felinos pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- A quantificação do DNA do patógeno é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
723

## EXAME

**Vírus da cinomose canina (CDV) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais clínicos multissistêmicos (sinais respiratórios, gastrointestinais, oftalmológicos, neurológicos e outros):** swab conjuntival, swab nasal, swab de orofaringe, fezes, swab retal, sangue total com EDTA, urina, soro, plasma, LCR (quadro neurológico), de acordo com os sinais clínicos.

**Sinais clínicos neurológicos (sem sinais clínicos multissistêmicos):** urina ou LCR.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente), sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril.

- Na cinomose canina, o quadro neurológico pode ser dividido em agudo ou crônico. O RNA viral pode estar ausente no LCR durante o quadro neurológico crônico. Em contrapartida, o vírus é eliminado na urina por longos períodos.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
772

## EXAME

**Vírus da cinomose canina (CDV) - Real Time PCR quantitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais clínicos multissistêmicos (sinais respiratórios, gastrointestinais, oftalmológicos, neurológicos e outros):** swab conjuntival, swab nasal, swab de orofaringe, fezes, swab retal, sangue total com EDTA, urina, soro, plasma, LCR (quadro neurológico), de acordo com os sinais clínicos.  
**Sinais clínicos neurológicos (sem sinais clínicos multissistêmicos):** urina ou LCR.

Obs: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos (com material orgânico visível no swab; favor esfregar firmemente), sem meio de transporte, em tubo de tampa vermelha ou em tubo vazio e estéril.

- Na cinomose canina, o quadro neurológico pode ser dividido em agudo ou crônico. O RNA viral pode estar ausente no LCR durante o quadro neurológico crônico. Em contrapartida, o vírus é eliminado na urina por longos períodos.
- Cães com histórico de vacinação de até 4 semanas: recomenda-se proceder com a quantificação de carga viral em animais com sinais clínicos sugestivos de cinomose canina. Interpretação de valores:-
  - Vírus vacinal - abaixo de 105.000 moléculas de RNA viral (total por amostra): carga viral baixa, dentro do limite compreendido por interferência do vírus vacinal.
  - Indeterminado - entre 105.000 e 1 milhão moléculas de RNA viral (total por amostra): não há discriminação confiável entre as variantes vacinal e selvagem (infecciosa).
  - Vírus selvagem (quadro infeccioso) - acima de 1 milhão moléculas de RNA viral (total por amostra): carga viral elevada, bem acima dos limites de interferência do vírus vacinal.
- A quantificação do RNA viral é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
816

## EXAME

**Vírus da imunodeficiência felina (FIV) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total em EDTA****Lesões bucais (estomatite, gengivite e outras):** swab de orofaringe +/- sangue total em EDTA.**Desordens neurológicas:** LCR +/- sangue total em EDTA.**Doença ocular (uveíte):** humor aquoso +/- sangue total em EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Para os quadros clínicos que especificam mais de uma amostra para o mesmo exame, enviar em tubos separados e inserir na requisição: **Código do exame + Pool + N° amostras (tipos).**
- A detecção do RNA viral reflete necessariamente replicação do vírus e estágio infeccioso ativo. Estágio de infecção assintomática pode apresentar ausência de RNA viral. Para diagnóstico definitivo, considere a detecção de DNA proviral.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FeLV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**

**CÓD.**  
**820****EXAME****ESPÉCIES:****Vírus da imunodeficiência felina (FIV) – Real Time PCR quantitativo****MATERIAL****Sangue total em EDTA****Lesões bucais (estomatite, gengivite e outras):** swab de orofaringe +/-ou sangue total em EDTA.**Desordens neurológicas:** LCR +/-ou sangue total em EDTA.**Doença ocular (uveíte):** humor aquoso +/-ou sangue total em EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Para os quadros clínicos que especificam mais de uma amostra para o mesmo exame, enviar em tubos separados e inserir na requisição: Código do exame + Pool + N<sup>o</sup> amostras (tipos).
- A quantificação de vírus circulante (RNA viral) é um parâmetro útil para avaliação da progressão da doença e é diretamente relacionado com grau de severidade clínica.
- Além de monitoramento infeccioso e prognóstico, a quantificação de RNA viral permite também avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FeLV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis****CÓD.**  
**894****EXAME****ESPÉCIES:****Vírus da imunodeficiência felina (FIV) – DNA PROVIRAL – Real Time PCR qualitativo****MATERIAL****Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A detecção do DNA proviral (genoma viral integrado no genoma do felino infectado) pode indicar animal com infecção ativa ou assintomático persistentemente infectado.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FeLV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis****CÓD.**  
**929****EXAME****ESPÉCIES:****Vírus da imunodeficiência felina (FIV) – DNA PROVIRAL – Real Time PCR quantitativo****MATERIAL****Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A detecção do DNA proviral (genoma viral integrado no genoma do felino infectado) pode indicar animal com infecção ativa ou assintomático persistentemente infectado.
- A quantificação do DNA proviral é indicada para monitoramento infeccioso e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.
- O prognóstico clínico e eficácia terapêutica são melhor averiguados pela quantificação do RNA viral.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FeLV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
723

## EXAME

Vírus da leucemia felina (FeLV) – Real Time PCR qualitativo

ESPÉCIES:



## MATERIAL

Sangue total em EDTA

**Lesões bucais (estomatite, gengivite e outras):** swab de orofaringe +/-ou sangue total em EDTA.**Desordens neurológicas:** LCR +/-ou sangue total em EDTA.**Doença ocular (uveíte):** humor aquoso +/-ou sangue total em EDTA.**Neoplasia:** biópsia de tumor, órgãos ou linfonodos (sem formol).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Para os quadros clínicos que especificam mais de uma amostra para o mesmo exame, enviar em tubos separados e inserir na requisição: **Código do exame + Pool + N<sup>o</sup> amostras (tipos)**.
- A detecção do RNA viral reflete necessariamente replicação do vírus e estágio infeccioso ativo. Estágios de infecção regressiva e abortiva apresentam ausência de RNA viral. Para diagnóstico definitivo, considere a detecção de DNA proviral.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FIV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
821

## EXAME

Vírus da leucemia felina (FeLV) – Real Time PCR quantitativo

ESPÉCIES:



## MATERIAL

Sangue total em EDTA

**Lesões bucais (estomatite, gengivite e outras):** swab de orofaringe +/-ou sangue total em EDTA.**Desordens neurológicas:** LCR +/-ou sangue total em EDTA.**Doença ocular (uveíte):** humor aquoso +/-ou sangue total em EDTA.**Neoplasia:** biópsia de tumor, órgãos ou linfonodos (sem formol).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Para os quadros clínicos que especificam mais de uma amostra para o mesmo exame, enviar em tubos separados e inserir na requisição: Código do exame + Pool + N<sup>o</sup> amostras (tipos).
- A quantificação de vírus circulante (RNA viral) é um parâmetro útil para avaliação da progressão da doença e é diretamente relacionado com grau de severidade clínica.
- Além de monitoramento infeccioso e prognóstico, a quantificação de RNA viral permite também avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FIV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
893

## EXAME

Vírus da leucemia felina (FeLV) – DNA PROVIRAL – Real Time PCR qualitativo

ESPÉCIES:



## MATERIAL

Sangue total em EDTA

Obs.: Enviar refrigerado.

- A detecção do DNA proviral (genoma viral integrado no genoma do felino infectado) pode indicar animal com infecção ativa ou assintomático persistentemente infectado.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FIV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
930

EXAME

ESPÉCIES:

**Vírus da leucemia felina (FeLV) – DNA PROVIRAL – Real Time PCR quantitativo**

MATERIAL

**Sangue total em EDTA**

Obs.: Enviar refrigerado.

- A detecção do DNA proviral (genoma viral integrado no genoma do felino infectado) pode indicar animal com infecção ativa ou assintomático persistentemente infectado.
- A quantificação do DNA proviral é indicada para monitoramento infeccioso e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.
- O prognóstico clínico e eficácia terapêutica são melhor averiguados pela quantificação do RNA viral.
- Devido à possibilidade de coinfeção com FIV, é importante também investigar a presença desse outro agente viral.

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
931

EXAME

ESPÉCIES:

**Vírus da panleucopenia felina (FPV; parvovírus felino)  
Real Time PCR qualitativo**

MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Desordens neurológicas (filhotes):** LCR ou tecido encefálico (sem formol).**Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do felino com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns gatos (especialmente filhotes e animais de gatis ou abrigos de animais) podem ser portadores assintomáticos do FPV (parvovírus felino).
- Atenção para animais recém-vacinados: resultados positivos para presença do DNA viral podem estar relacionados com a cepa atenuada de FPV utilizada na vacinação.
- Para haver maior confiabilidade da correlação entre diagnóstico e quadro clínico, é necessário a quantificação de carga viral excretada (fezes).

**PRAZO 5 dias úteis**CÓD.  
932

EXAME

ESPÉCIES:

**Vírus da panleucopenia felina (FPV; parvovírus felino) – Real Time PCR quantitativo**

MATERIAL

**Fezes ou swab retal****Desordens neurológicas (filhotes):** LCR ou tecido encefálico (sem formol).**Contaminação ambiental:** swab ambiental (local de convívio do felino com suspeita clínica).

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swab seco, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

- Alguns gatos (especialmente filhotes e animais de gatis ou abrigos de animais) podem ser portadores assintomáticos do FPV (parvovírus felino).
- Atenção para animais recém-vacinados: resultados positivos para presença do DNA viral podem estar relacionados com a cepa atenuada de FPV utilizada na vacinação.
- Para haver maior confiabilidade da correlação entre diagnóstico e quadro clínico, é necessário a quantificação de carga viral excretada (fezes).
- **Resultado positivo (quantificação):**
  - - Carga viral baixa: frequentemente observada para portador assintomático ou detecção de cepa vacinal atenuada.
  - - Carga viral alta: compatível com panleucopenia felina.
  - - Carga viral média: panleucopenia felina subaguda ou crônica (evolução clínica acima de 10-15 dias) ou portadores assintomáticos em ambiente altamente contaminado (abrigos de animais). Carga viral média é raramente observada em animais assintomáticos que foram recentemente vacinados.
- A quantificação do DNA viral também é indicada para monitoramento infeccioso, prognóstico e avaliação de eficácia terapêutica no animal infectado.

**PRAZO 5 dias úteis**

CÓD.  
899

## EXAME

**Circovírus canino (CanineCV) - Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas, swab retal ou sangue total em EDTA.**

Obs.: Enviar refrigerado. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.

- A detecção do DNA de circovírus canino pode ocorrer tanto em cães doentes quanto em subclínicos saudáveis. A Real Time PCR do soro não diferencia, em termos de prevalência, animais subclínicos saudáveis de doentes para a infecção viral.
- Por outro lado, quando diagnosticado a partir de fezes frescas ou swab retal, a presença do DNA viral é mais frequentemente relacionada com o quadro patológico causado pelo circovírus canino.

## PRAZO

**8 dias úteis**CÓD.  
898

## EXAME

***Cryptosporidium* spp. – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Fezes frescas ou swab retal**

Obs.: Enviar refrigerado. As fezes ou swabs devem ser enviados em tubo estéril, sem adição de meio para transporte. A coleta da amostra deve ser realizada preferencialmente antes do início do tratamento.

- Como a eliminação de *Cryptosporidium* spp. nas fezes pode ser intermitente, para evitar resultados falso negativos, recomenda-se enviar 3 swabs retais coletados em dias diferentes durante 1 semana. Coletar os swabs em mesmo tubo e manter refrigerado até o envio.
- Atenção para a possibilidade de coinfeção com *Giardia* em cães e gatos, e coinfeção com *Tritrichomonas foetus* em gatos.
- Resultados positivos devem ser interpretados de acordo com os sinais clínicos e contexto epidemiológico. Alguns animais podem ser apenas portadores assintomáticos.

## PRAZO

**8 dias úteis**CÓD.  
897

## EXAME

**Herpesvírus canino 1 (CHV-1) – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total em EDTA****Doença ocular:** swab conjuntival**Doença do trato respiratório superior:** swab nasofaríngeal**Transtornos reprodutivos:** swab vaginal/prepucial ou sêmen**Abortamentos ou natimortos:** tecido de feto abortado congelado

Obs.: Enviar refrigerado. Caso envie swab, este deve ser acondicionado em tubo tampa vermelha ou tubo vazio e estéril e enviado sem adição de qualquer meio de transporte.

- A Real Time PCR é recomendada para detecção direta do patógeno nos quadros de infecção produtiva viral. Para animais com infecção latente ou subclínica, indica-se associação de um método sorológico para pesquisa de anticorpos (detecção 3-4 semanas pós-infecção).

## PRAZO

**8 dias úteis**

CÓD.  
896

## EXAME

**Adenovírus canino 2 (CAV-2) – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sinais respiratórios:** swab nasal, swab de faringe, swab conjuntival, biópsia de tecido hepático ou sangue total em EDTA.

**Sinais entéricos:** fezes frescas, swab retal, biópsia de tecido hepático ou sangue total em EDTA.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

## PRAZO

**8 dias úteis**CÓD.  
895

## EXAME

**Brucella spp. – Real Time PCR qualitativo**

ESPÉCIES:



## MATERIAL

**Sangue total em EDTA, esperma, swab vaginal, swab prepucial ou medula óssea.**

**Abortamentos:** também podem ser enviados secreção vaginal, tecidos fetais (coração, baço, rim, pulmão, intestino, fígado ou linfonodos) ou placenta. Os tecidos devem ser enviados em tubo vazio e estéril, sem adição de formol.

Obs.: Enviar refrigerado. Favor submeter swabs secos, sem meio de transporte, em tubo de soro ou em tubo vazio e estéril.

## PRAZO

**8 dias úteis**



## TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO



<b>CÓD. BOVGG</b>	<b>EXAME</b> <b>Glicogenose Generalizada - Doença de Pompe E7 (GG)</b> <b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).</b> <b>PRAZO 15 dias úteis</b>
<b>CÓD. BOVE13</b>	<b>EXAME</b> <b>Glicogenose Generalizada - Doença de Pompe E13 (GG)</b> <b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).</b> <b>PRAZO 15 dias úteis</b>
<b>CÓD. BOVMIAS</b>	<b>EXAME</b> <b>Síndrome Miastênica Congênita</b> <b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).</b> <b>PRAZO 15 dias úteis</b>
<b>CÓD. BOVPAIN</b>	<b>EXAME</b> <b>Painel Doenças Genéticas de Bovinos - mesmo animal</b> Glicogenose Generalizada – Doença de Pompe E7 (GG), Glicogenose Generalizada – Doença de Pompe E13 (GG), Síndrome Miastênica Congênita <b>MATERIAL</b> <b>Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).</b> <b>PRAZO 15 dias úteis</b>



## TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

**CÓD.**  
**881****EXAME****Astenia Regional Dérmica Hereditária Equina****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis****CÓD.**  
**882****EXAME****Síndrome Letal do Overo Branco****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis****CÓD.**  
**883****EXAME****Miopatia por Acúmulo de Polissacarídeo I****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis****CÓD.**  
**884****EXAME****Paralisia Periódica Hipercalemica****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis****CÓD.**  
**885****EXAME****Hipertermia Maligna****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis****CÓD.**  
**886****EXAME****Painel Doenças Genéticas de Equinos - mesmo animal****Miopatia por Acúmulo de Polissacarídeo I, Paralisia Periódica Hipercalemica, Hipertermia Maligna****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado ou pelo com bulbo piloso (50 bulbos).****PRAZO 15 dias úteis**

**TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO****CÓD.  
BOLALB****EXAME**

Albinismo em Búfalos

**MATERIAL**

Sangue total em EDTA refrigerado.

**PRAZO** 15 dias úteis**TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO****CÓD.  
BOVDERM****EXAME**

Dermatosparaxis em White Dorper

**MATERIAL**

Sangue total em EDTA refrigerado.

**PRAZO** 15 dias úteis**CÓD.  
BOVMICRO****EXAME**

Microftalmia Herediária em Ovinos Texel

**MATERIAL**

Sangue total em EDTA refrigerado.

**PRAZO** 15 dias úteis**TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO****CÓD.  
887****EXAME**

Resistência a drogas - MDR1

**MATERIAL**

Sangue total em EDTA refrigerado.

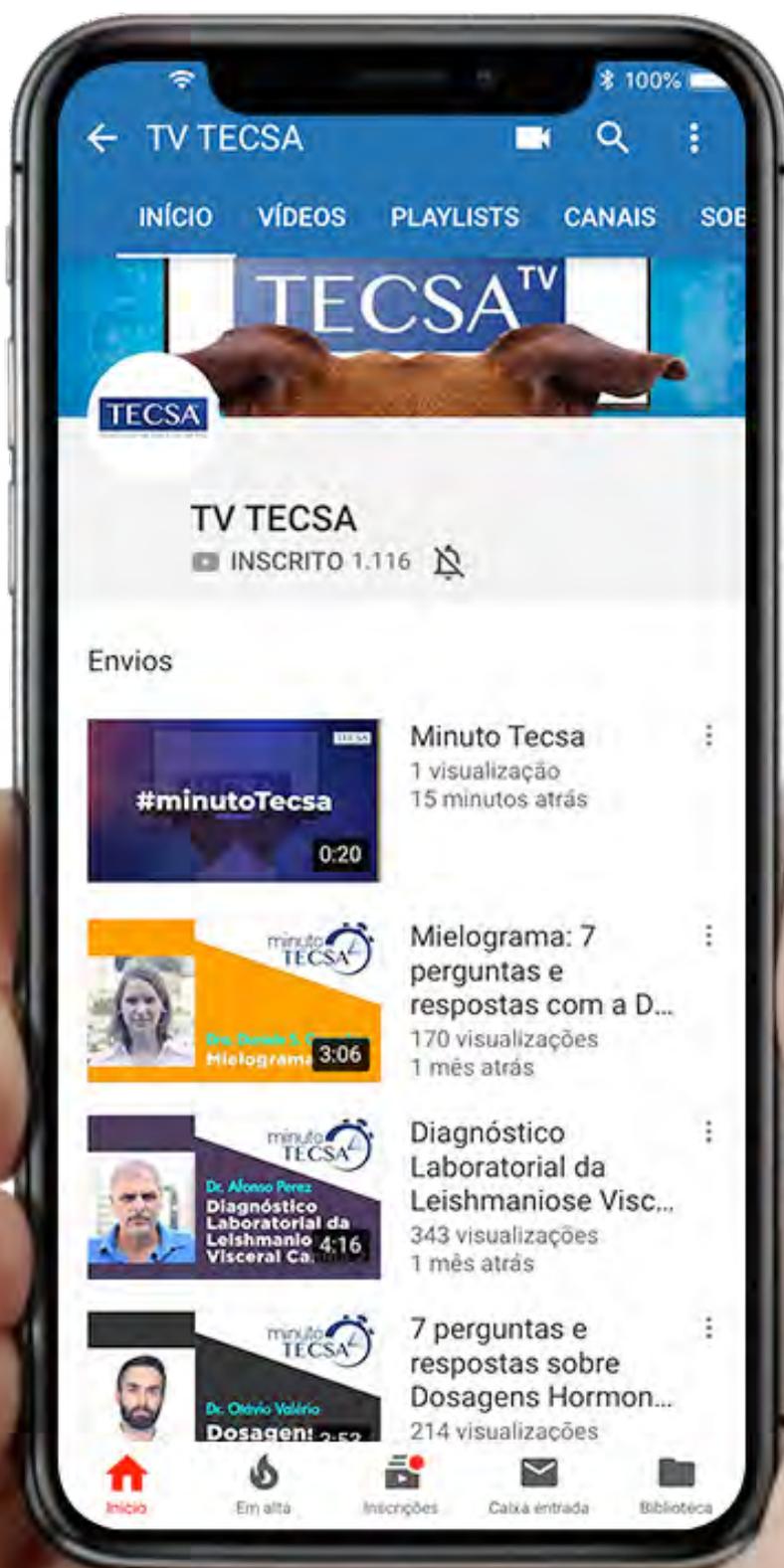
**PRAZO** 15 dias úteis

**TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO****CÓD.**  
**888****EXAME****Atrofia Retiniana Progressiva****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado.****PRAZO** 15 dias úteis**CÓD.**  
**889****EXAME****Colapso Induzido por Exercício****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado.****PRAZO** 15 dias úteis**CÓD.**  
**890****EXAME****Painel Doenças Genéticas Caninas - mesmo animal**  
Atrofia Retiniana Progressiva, Colapso Induzido por Exercício**MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado.****PRAZO** 15 dias úteis**TESTES GENÉTICOS – SEQUENCIAMENTO GENÉTICO****CÓD.**  
**891****EXAME****Doença do Rim Policístico em Felinos - PDK1****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado.****PRAZO** 15 dias úteis**CÓD.**  
**890****EXAME****Cardiomiopatia Hipertrófica Felina****MATERIAL****Sangue total em EDTA refrigerado.****PRAZO** 15 dias úteis

# ASSISTA OS VÍDEOS DOS NOSSOS ESPECIALISTAS NO YOUTUBE



<https://bit.ly/2zvDtnK>



# TECSA LABORATÓRIOS

*Referência desde 1994*



(31) 3281-0500 (31) 99156-0580 (31) 98488-2599 [sac@tecsa.com.br](mailto:sac@tecsa.com.br) [www.tecsa.com.br](http://www.tecsa.com.br)

[TECSALaboratorios](https://www.facebook.com/TECSALaboratorios) [TECSALaboratorios](https://www.instagram.com/TECSALaboratorios) [Tecs Laboratórios](https://www.linkedin.com/company/tecsa-laboratorios) [tv tecsa](https://www.youtube.com/channel/UC...)