

Orientações de colheita
Exames imunologia
cães



CDMA
Centro de Diagnóstico e Monitoramento Animal

COLHEITA DE MATERIAL PARA SOROLOGIA

EXAMES SOROLOGIA

LEISHMANIOSE – ELISA

Preparo de Paciente Jejum não obrigatório.

Comentários A leishmania é um protozoário intracelular de macrófagos, uma célula do sistema imunológico do organismo, que atinge homens, cães e muitos animais silvestres. Ocorrem dois tipos de Leishmaniose: cutânea e visceral. Os vetores são flebotomíneos hematófagos.

A Leishmaniose visceral apresenta um amplo espectro de características clínicas que variam de aparente estado sadio a um estado severo, podendo evoluir para a morte. Pode ocorrer inversão das frações albumina e globulina. Transaminases elevadas além de bilirrubinas discretamente alteradas, proteinúria, hematúria, alterações da função renal podem ocorrer quando há comprometimento deste órgão. O material deve ser colhido através de punção venosa. Deve ser enviado apenas o soro na quantidade mínima de 1 mL. Não enviar amostra coletada em papel filtro. Por se tratar de um método sorológico em que o resultado está ligado ao sacrifício do animal, o diagnóstico da leishmaniose deve ser sempre interpretado em conjunto com os achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais.

Método Imunoensaio enzimático

Condição 0,5 mL de soro refrigerado

Conservação para envio Até 7 dias entre 2 e 8°C

Valor de referência Valor acima da linha do corte recomendado pelo fabricante do kit. Existem resultados com valores limites que os testes não foram capazes de determinar como reagente ou não reagente. Recomenda-se para estes casos, um novo teste após 45 a 60 dias do último exame. Pode corresponder ao início da

soroconversão, reações cruzadas e/ou inespecífica, falência do sistema imune. Há ainda resultados sem título de anticorpos (não reagentes).

LEISHMANIOSE – RIFI

Preparo de Paciente Jejum não obrigatório.

Comentários A leishmania é um protozoário intracelular de macrófagos, uma célula do sistema imunológico do organismo, que atinge homens, cães e muitos animais silvestres. Ocorrem dois tipos de Leishmaniose: cutânea e visceral. Os vetores são flebotomíneos hematófagos. O material deve ser colhido através de punção venosa. Deve ser enviado apenas o soro na quantidade mínima de 0,5 mL. Não enviar amostra coletada em papel filtro. Por se tratar de um método sorológico em que o resultado está ligado ao sacrifício do animal, o diagnóstico da leishmaniose deve ser sempre interpretado em conjunto com os achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais.

Método Imunofluorescência Indireta

Condição 0,5 mL de soro refrigerado

Conservação para envio Até 7 dias entre 2 e 8°C

LEPTOSPIROSE – MICROAGLUTINAÇÃO LENTA

Preparo de Paciente Jejum não obrigatório.

Comentários A leptospirose é uma doença causada por vários sorovares imunologicamente distintos de *Leptospira*. A investigação sorológica propicia a detecção de animais infectados pela bactéria que frequentemente se localiza nos rins e órgãos reprodutores, sendo eliminada pela urina por meses ou anos. O diagnóstico poderá ser confirmado por um título crescente em amostras pareadas. Este teste detecta os sorovares: pomona, canicola, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae.

Método Microaglutinação lenta.

Condição Sangue total (3,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 – 2,0mL de soro do animal suspeito.

Conservação para Envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 3 dias após a coleta.

Valor de Referência Negativo.

BRUCELOSE CANINA – IMUNOCROMATOGRÁFIA

Comentários A brucelose canina é uma doença infecto-contagiosa de cães que se caracteriza por aborto, infertilidade, comprometimento de tecidos linfóides e bacteremia prolongada. A doença se manifesta, em cadelas, com metrite e aborto depois de 30 a 50 dias de gestação; já nos machos, caracteriza-se por orquite e epididimite. Como na brucelose de outros animais, infecção com *B. canis* não interfere no ciclo estral normal dos animais.

Método Imunocromatografia

Condição 0,5 mL de soro refrigerado. Não usar anticoagulante

Conservação para envio Até 7 dias entre 2 e 8°C

Nota Quando a bactéria migra para os tecidos, o nível de anticorpos detectáveis decai consideravelmente, interferindo de forma negativa no resultado dos testes sorológicos. Para se garantir que um animal seja considerado negativo, é aconselhada a realização de três testes consecutivos negativos com intervalos de 30 a 45 dias. Caso a doença seja confirmada em pelo menos um animal da propriedade, será preciso testar todos os outros por métodos sorológicos. A escolha do método de diagnóstico a ser empregado está na dependência do tempo de infecção, pois animais infectados por menos de 4 a 12 semanas podem apresentar resultados falso-negativos. Os testes sorológicos devem ser conduzidos mensalmente até que a infecção seja completamente eliminada, ou seja, até o momento em que 3 testes sorológicos consecutivos resultarem negativos para cada animal da propriedade. Deve-se sempre levar em conta que os animais podem eventualmente estar em diferentes estágios da doença, o que significa que alguns testes sorológicos podem apresentar resultados falso-negativos.

TOXOPLASMOSE CANINA (IGM E IGG)

Preparo de Paciente Não é necessário jejum

Comentários A toxoplasmose tem como agente etiológico o protozoário *Toxoplasma gondii*, tendo o gato como seu hospedeiro definitivo e o homem e outros animais como hospedeiros intermediários. A transmissão pode ser realizada pela ingestão de alimentos vegetais contaminados com oocistos e os de origem animal, principalmente produtos suínos e ovinos com cistos, sendo os maiores responsáveis pela infecção humana e canina. A doença pode provocar graves lesões sistêmicas, variando de sinais neurológicos, ósteo-musculares, respiratórios a oculares, dentre outros. A sorologia para *T. gondii*, em cães e gatos, é tradicionalmente o método mais utilizado para confirmação diagnóstica, sendo na maioria das vezes baseado na identificação de IgG. A soroconversão ocorre após duas a quatro semanas da infecção, com um pico que ocorre nas quatro a seis semanas posteriores. Os títulos de anticorpos iguais ou maiores que 1:512 geralmente indicam uma infecção ativa recente.

Método Imunofluorescência indireta

Condição Sangue total (3,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 – 2,0 mL de soro. Serão rejeitadas as amostras com presença de contaminação e lipemia acentuada.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 5 dias após a coleta. Congelado a temperatura inferior a -4°C pode ser utilizado até 6 meses após a coleta.

CINOMOSE – PESQUISA DE ANTÍGENO VIRAL

Preparo de Paciente Jejum não obrigatório.

Comentários A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa que atinge todos os canídeos. Cães jovens e não vacinados são os mais acometidos. A doença é normalmente multissistêmica, com envolvimento multifocal progressivo do sistema nervoso central. Cães mais velhos podem desenvolver uma forma mais insidiosa com gradual perda da consciência e progressiva paresia posterior. Apresenta duas formas: sobreaguda, caracterizada por febre repentina e morte súbita e aguda, quando os

animais apresentam sinais de febre, prostração, inapetência, secreções nasal e ocular, vômitos e diarreia, podendo ocorrer posteriormente sintomas neurológicos, como paralisia, convulsões e morte. O agente da cinomose é um RNA - vírus da família *Paramyxoviridae* gênero *Morbilivirus*. O teste permite a detecção do antígeno viral, principalmente na fase de viremia (aproximadamente a partir do 10º dia após o contato), onde o antígeno é eliminado em altas concentrações por até meses em saliva, urina, fezes e secreção nasal.

Método Imunocromatográfico

Condição O teste deve ser realizado utilizando amostra de secreção nasal, ocular (conjuntiva), urina, saliva, soro ou plasma. **Realizar o teste preferencialmente com amostra de secreção ocular** (conjuntiva) devido a maior titulação de vírus presente na mesma. No caso de coleta de secreção ocular, coletar a amostra com o swab. Para amostra de secreção ocular umedecer o swab com solução salina. Não umedecer o swab com solução tampão. Não utilizar o swab seco (evitar lesões).

Conservação para envio Manter sob refrigeração (2 a 8° C) por 48 horas. Se for necessário um armazenamento de vários dias, é recomendado o congelamento (-20°C).

CINOMOSE DETECÇÃO DE ANTICORPOS

Preparo do paciente Não é necessário jejum

Comentários A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa que atinge todos os canídeos. Cães jovens e não vacinados são os mais acometidos. A doença é normalmente multissistêmica, com envolvimento multifocal progressivo do sistema nervoso central. Cães mais velhos podem desenvolver uma forma mais insidiosa com gradual perda da consciência e progressiva paresia posterior. Apresenta duas formas: sobreaguda, caracterizada por febre repentina e morte súbita e aguda, quando os animais apresentam sinais de febre, prostração, inapetência, secreções nasal e ocular, vômitos e diarreia, podendo ocorrer posteriormente sintomas neurológicos, como paralisia, convulsões e morte. O agente da cinomose é um RNA - vírus da família *Paramyxoviridae* gênero *Morbilivirus*.

Método Imunocromatográfico

Condição Sangue total (3,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 – 2,0 mL de soro. Serão rejeitadas as amostras com presença de contaminação e lipemia acentuada.

Conservação para envio As amostras de sangue total devem ser utilizadas imediatamente, se possível, ou então devem ser estocadas a uma temperatura entre 2 a 8° C por até 3 dias. Se as amostras de soro ou plasma não forem testadas imediatamente, elas devem ser refrigeradas a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CORONAVIROSE CANINA – PESQUISA DE ANTÍGENO

Preparo de paciente Não é necessário jejum.

Comentários O agente etiológico da doença é o Coronavírus canino. Animais acometidos por esse agente estão sujeitos a gastrites, enterites, hepatites e quadros diarréicos (com ou sem sangue), vômitos, perda de apetite e prostração.

Método Imunocromatografia

Condição Sangue total colhido em tubo de tampa vermelha. Serão rejeitadas as amostras que apresentarem hemólise acentuada.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 3 dias após a coleta.

ERLICHIOSE CANINA – DETECÇÃO DE IGG E IGM

Preparo do paciente Não é necessário jejum

Comentário A ehrlichiose é uma doença que acomete cães, sendo causada principalmente pela *Ehrlichia canis* e é transmitida pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. As Ehrlichias fazem parte do grupo das Rickettsias. A erliquiose canina é uma importante doença infecciosa cuja prevalência tem aumentado significativamente em várias regiões do Brasil. Dentre os sinais clínicos da enfermidade destaca-se, na fase aguda, febre, anorexia, apatia, linfadenopatia e alterações oculares e na fase

crônica, perda de peso, palidez de mucosas, tendência a hemorragias. As alterações laboratoriais freqüentemente envolvidas incluem trombocitopenia, anemia arregenerativa, hiperglobulinemia, dentre outras. O sucesso do tratamento depende de um diagnóstico precoce.

Método ELISA

Condição Sangue total (3,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 mL de soro.

Conservação para envio Até 7 dias refrigerado entre 2 e 8°C.

PARVOVIROSE

Preparo de paciente Não é necessário jejum

Comentários Trata-se de uma enfermidade infecto-contagiosa, cujo agente etiológico é um vírus pertencente à família Parvoviridae. O diagnóstico clínico da parvovirose é sugestivo, mas deve sempre ser diferenciado de gastroenterites bacterianas, podendo também ser associada a Coronavirose e Rotavirose. A parvovirose é uma infecção entérica caracterizada por vômitos e diarreia geralmente hemorrágica. Leucopenia geralmente acompanha os sinais clínicos. Em filhotes de 4-12 semanas a mortalidade é maior, após infecção muitos cães se tornam refratários. Ocorre detecção do vírus nas fezes após o terceiro dia de infecção.

Método Imunocromatográfico

Condição Fezes recentes (sem nenhum tipo de conservante). Não há causas para rejeição de amostra

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 4 dias após a coleta.

PESQUISA DE BABESIA – IGM

Preparo de Paciente Não é necessário jejum

Comentários Análise sorológica que permite a detecção de anticorpos da classe IgM que são produzidos no estágios recentes da infecção pelo protozoário, refletindo assim

um processo agudo ou infecção ativa. O gênero *Babesia* engloba protozoários que parasitam vários animais domésticos, entre eles, equinos, bovinos e caninos. São encontrados em hemácias na forma de merozoítos. Em cães, a *B. canis* é transmitida por carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*. O teste sorológico permite a detecção de uma resposta imune voltada ao antígeno, refletindo assim a produção de anticorpos devido ao contato com o agente.

Método ELISA

Condição: Sangue total (2,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 mL de soro.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 3 dias após a coleta.

PESQUISA DE BABESIA – IGG

Preparo de Paciente Não é necessário jejum

Comentários Análise sorológica que permite a detecção de anticorpos da classe IgG que são produzidos nos estágios avançados da infecção pelo protozoário, refletindo assim um processo crônico. Titulações baixas podem também refletir um quadro de memória imunológica. O teste sorológico permite a detecção de uma resposta imune voltada ao antígeno, refletindo assim a produção de anticorpos devido ao contato com o agente.

Método ELISA

Condição: Sangue total (2,0 mL) colhido em tubo de tampa vermelha ou 0,5 mL de soro.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 3 dias após a coleta.

PESQUISA DE ROTAVÍRUS

Preparo de paciente Não é necessário jejum

Comentários O rotavírus é um vírus da família *Reoviridae* que causa diarreia grave e desidratação frequentemente acompanhadas de febre, vômitos, anorexia e letargia. É hoje considerado um dos mais importantes agentes causadores de gastroenterites e de óbitos. O agente acomete principalmente caninos com idade inferior a 12 semanas de idade e manifesta-se na forma sub-clínica em animais adultos.

Método Imunocromatografia

Condição Fezes frescas (sem conservantes). Serão rejeitadas as amostras enviadas fora de refrigeração ou em meio preservante.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 24 horas após a coleta.

LEPTOSPIROSE – PESQUISA EM CAMPO ESCURO

Preparo de paciente Assepsia da região genital antes da coleta.

Comentários Permite a identificação direta de *Leptospira* na urina do animal suspeito. Sendo indicado no diagnóstico em animais onde o ambiente seja potencialmente contaminado por *Leptospira* (presença de roedores etc.). Vale lembrar que o agente etiológico ao ganhar a circulação invade órgãos pelos quais tem maior tropismo, sendo os principais fígado, rins e baço. Sua identificação na urina torna-se mais fácil durante a leptospirúria, no qual a bactéria é eliminada.

Método Pesquisa direta em microscopia de campo escuro

Condição Urina recente (3,0 mL), podendo também ser coletada por cistocentese. Serão rejeitadas as amostras contaminadas, amostras não refrigeradas ou colhidas com tempo superior a 24 horas.

Conservação para envio Enviar à temperatura entre 2 e 8°C até 2 dias após a coleta. Armazenar em frasco estéril e protegido da luz.