



## PERGUNTAS WEBINAR – 09/12 – AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS EM CÃES NA PRÁTICA CLÍNICA COM BIOLOGIA MOLECULAR POC

**Professor Vitor, obrigada pela aula. Você saberia me dizer se já existe algum painel de biomarcadores imunológicos para a LV? Isso auxiliaria para fechar melhor o diagnóstico desta doença?**

Obrigado pela pergunta. Os marcadores de evolução de doença que utilizamos na rotina se baseiam em avaliar a imagem (renal que revela alterações precoces de estrutura renal e baço que conforme sua estrutura e tamanho também são marcadores de evolução). Em sequência os marcadores de hemograma, principalmente aqueles que se associam a anemia (hto e hg) com contagem de reticulócitos (nos dá informação se o processo tem característica regenerativa); nos leucócitos temos diferenciais como aumento de monócitos que revelam processo ativo que pode estar associado a *Leishmania* e eosinófilos que, quando aumentados, podem ser ligados a situações mais avançadas da infecção com maior IgE circulante. Nas plaquetas também temos alterações que podem ser interpretadas como marcadores de evolução como trombocitopenia ou trombocitose que revelam alterações na produção ou liberação de plaquetas associadas a disfunções de medula óssea. Entre os marcadores bioquímicos temos aqueles de função renal como proteinúria, densidade urinaria, ureia, creatinina, SDMA e os de função hepática (ALT, FA, Ácidos biliares). Destacam-se as proteínas séricas como a albumina, globulinas e a proteína C reativa (marcadores essenciais de progressão da doença). Além disso, os títulos sorológicos e a carga parasitária são também essenciais no acompanhamento da progressão ou regressão da infecção/doença. Marcadores de células CD4/CD8, populações de linfócitos TH1, TH2 também podem servir de marcadores, embora sejam menos utilizados e os exames acima refletem suas populações. Então você vê que existem marcadores que devem ser analisados em conjunto e, dessa forma, permitem adequado acompanhamento do manejo dos animais expostos ou infectados.

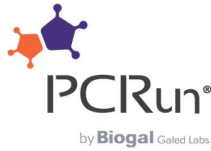
**Boa noite, Dr. Vitor. Gostaria de saber se para a PCRun, o ideal para este exame para *Ehrlichia* e *Babesia* é medula óssea. Tenho feito em minha clinica somente com medula, mas pode ser feita com sangue total?**

Obrigado pela pergunta. Temos como prática realizar os exames em ambos os ambientes. Porém, para pesquisa de *Ehrlichia* consideramos a medula óssea ou baço como ambientes mais sensíveis a se encontrar a bactéria. O exemplo que dei na aula foi de pesquisa em sangue periférico. Já para *Babesia*, temos feito rotineiramente no sangue, embora saibamos que a *Babesia vogeli* e a *B. gibsoni* são viscerais. Com isso, seu encontro poderá ser efetivo também em vísceras, como o baço e a medula óssea.

**A PCR em tempo real com teor QUALITATIVA é realizada sem curva de diluição? Obrigada att.**

Obrigado pela pergunta. Sim. PCR qualitativa não permite quantificação do agente, se presente. Ela nos oferece em um processo de reação mais simplificado o resultado positivo ou negativo, sem precisar sua carga naquela amostra. O uso da PCR quantitativa se dá para fins de tratamento no acompanhamento do processo de infecção/doença.

**Quanto tempo pode haver titulação positiva em sorologia pós tratamento para *Babesia* e *Ehrlichia*?**



Obrigado pela pergunta. Temos visto que os animais ficam por muito tempo soropositivos após eliminadas as infecções. Em *Babesia* temos titulação compatível com proteção pós infecção por 5 a 8 meses e possível reinfecção após esse período, quando caem os títulos. Com *Ehrlichia* são relatados períodos até superiores a 1 ano. Vale lembrar que em infecções por *Ehrlichia* os animais podem permanecer em fase subclínica por mais de um ano e com altos títulos. Em ambos agentes etiológicos, temos visto em publicações científicas que os animais podem ficar infectados mesmo após tratamentos completos. Assim, não basta o acompanhamento por sorologia, é necessário o estadiamento dos animais em períodos regulares, sobretudo para *Ehrlichia*. Digo isso, porque nem sempre a infecção pela *Babesia vogeli* tem características de geração de doença. Existem muito portadores assintomáticos e em equilíbrio imunológico, assim como acontece com os bovinos com a *Babesia bovis* (pré-munição).

**Boa noite. Obrigada por tantas informações relevantes. Quais coinfeções associadas à leptospirose o senhor mais observa?**

Obrigado pela pergunta. A leptospirose é uma infecção que desencadeia um processo agudo e muitas vezes fatal nos animais e humanos. Todas as coinfeções são possíveis, uma vez que os cães, principalmente, apresentam, em nosso meio, agentes com característica de cronicidade como a *Babesia*, *Ehrlichia*, *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, entre outros. Assim, animais com quadro agudo por *Leptospira* podem apresentar agudização de infecções por um desses agentes. Cabe a nós durante o manejo da doença estarmos atentos para os quadros que não respondem ao tratamento tradicional. Esses quadros muitas vezes se devem às coinfeções ou a comorbidades não infecciosas. Além disso, coinfeções podem exacerbar a gravidade da infecção pela *Leptospira*.

**Qual a diferença entre a PCR point of care e a PCR convencional?**

Obrigado pela pergunta. Os testes *point-of-care testing* (POCT), também chamados de testes laboratoriais remotos (TLR), testes descentralizados ou testes à beira do leito. Essa prática auxilia em resultados rápidos e permitem também decisões rápidas de tratamento. Na área molecular, a tecnologia POC (TESTE DIAGNOSTICO RÁPIDO) são de ensaios moleculares simplificados que permitem que mais tecnólogos e laboratórios realizem esses testes fora dos laboratórios de microbiologia clínica, aumentando sua utilização e o número de pessoas envolvidas no processo. São qualitativos e permitem diagnósticos em 1:15 minutos, diferentes dos testes de PCR qualitativos que duram um ou mais dias. Esses testes são semelhantes ao PCR padrão, porém, como é explicado pelo laboratório Biogal, ele é um teste de amplificação molecular isotérmico e isso simplifica o processo permitindo a realização da PCR em menor espaço de tempo. Com isso temos um grande avanço no diagnóstico rápido também na área molecular, com melhor sensibilidade e especificidade, que são características dos testes moleculares.

**Paciente com CLÍNICA de leptospirose, sorologia e PCR negativo, campo escuro positivo. Fechou o diagnóstico?**

Obrigado pela pergunta. Fecha sim. O encontro do agente determina a infecção. Cabe ao clínico discernir se esse paciente é um portador assintomático com leptospirose ou se está em fase de doença. Podemos ter falso positivos na sorologia em casos de sorovares não examinados ou em infecções recentes onde não houve tempo de formação de anticorpos. No caso do PCR poderia estar relacionado com o material encaminhado para exame. Sabemos que nos primeiros sete dias da infecção a pesquisa deve ser feita no sangue e que na fase seguinte na urina. Por isso, fazemos em nossa rotina o PCR de urina e sangue nos animais suspeitos da infecção.



**Professor, para leish, na impossibilidade de PRC de medula óssea, qual outra amostra pode ser usada com boa acurácia? Quando optar por PCR de pele? Apenas quando há lesões ou existe um local de coleta preferencial?**

Obrigado pela pergunta. Para aferição da carga parasitária você pode pesquisar órgãos como linfonodos, medula óssea, baço, pele e até o sangue. As publicações têm demonstrado que a medula óssea é o órgão mais parasitado e, por isso, teríamos resultados mais fiéis para o diagnóstico e a aferição da carga parasitaria. Na prática clínica temos optado pela medula óssea em primeiro lugar e quando não é possível pelo linfonodo, em geral poplíteo.

O exame de pele nos confere a informação da infectividade. Eu sempre faço, quando o tutor permite, porque tenho a informação do risco de transmissão daquele paciente. Em geral vemos que animais com carga em pele são mais sensíveis ao adoecimento. O exame da pele faço independentemente da existência de lesões na pele.

**Boa noite, é possível usar o PCrun para amostras de animais silvestres?**

Obrigado pela pergunta. Sim. Os PCRs não são espécie específicas, podemos ser realizados em diferentes espécies animais.

**Sabe-se qual a cepa de cinomose responsável pela doença nestes grandes felinos??**

Obrigado pela pergunta. No trabalho, os autores revelaram que a análise filogenética obtida do morbilivirus isolado de um leão que veio a óbito revelou estreita relação entre o morbilivirus do leão e a cepa Onderstepoort do CDV com as sequências tendo 95% de identidade de nucleotídeos.

**O PCR detecta material genético de partículas virais inativadas, que não causariam a doença clínica?**

Obrigado pela excelente pergunta. Os resultados associados a identificação de DNA de material genético inativo são descritos em vários trabalhos específicos sobre o tema. Entretanto, é importante ressaltar que os resultados devem ser analisados em associação com os fatores clínicos e laboratoriais associados. Para tal existem testes de viabilidade molecular que são aplicadas em amostras onde se deseja confirmar a viabilidade de vírus e bactérias presentes. Nem sempre a presença do agente está associada a doença, seja pela inatividade do agente ou pela resistência do animal infectado.

**Boa noite, obrigada pela palestra. Há relação no resultado de exame do PCR ser positivo e animais terem sido vacinados para Leishmaniose?**

Obrigado pela pergunta. Não. A vacina não interfere nesse resultado.