



MÉTODO DE COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS PARA EXTRAIR RNA DO VÍRUS DA CINOMOSE CANINA COM O KIT PCRun® Sample PREP Cat. N 30 PRE308

O Kit de Cinomose Canina PCRun® detecta a presença de RNA do vírus da cinomose em amostras clínicas. O vírus da cinomose é capaz de sobreviver e replicar apenas dentro de um organismo vivo, portanto, possui um tempo de vida muito curto quando é removido do hospedeiro infectado. Durante a manipulação do tecido que hospeda o vírus, são liberadas enzimas (RNases) que lisam o RNA viral exposto. Por esse motivo, é importante manter todas as amostras em condições de refrigeração antes da extração.

QUANDO AS AMOSTRAS SÃO COLETADAS?

Para a detecção do vírus da Cinomose canina por PCRun®, o momento ideal para a coleta da amostra é durante o pico febril, quando a secreção nasal ainda é serosa ou mucoide.

QUAIS AMOSTRAS DEVEM SER UTILIZADAS E COMO DEVE SER REALIZADA A COLETA?

Swabs:

Use apenas swabs estéreis do tipo Dacron ou Rayon ou, se disponíveis, swabs flocados. NÃO use swabs de alginato de cálcio, pois podem conter substâncias que inativam alguns vírus e inibem alguns ensaios moleculares.

Amostras coletadas em **swabs** e colocadas **em meio de transporte viral (não bacteriano)** são **ideais para** testes de PCR. Um **swab** umedecido com solução salina estéril e colocado em um tubo estéril **selado** pode ser usado se o meio de transporte adequado não estiver disponível.

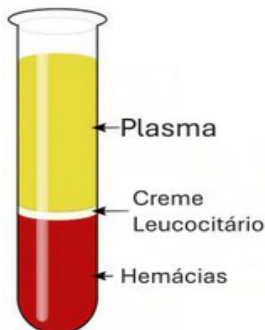
Swab conjuntival: Os swabs conjuntivais devem ser coletados separadamente de ambas as conjuntivas inferiores. Esses devem ser estéreis e apropriados, umedecidos com solução salina fisiológica. Isso é feito puxando a pálpebra inferior para fora para expor a conjuntiva. Insira a ponta do swab na conjuntiva e esfregue firmemente o interior da pálpebra para remover as células epiteliais. As amostras conjuntivais geralmente estão cheias de muco e contêm poucas ou nenhuma célula, portanto, deve-se ter atenção ao coletar, para não coletar somente o muco. Abra um tubo estéril limpo, insira cerca de um terço do bastão do swab e, em seguida, encaixe a alça para que ela se quebre e a ponta do swab caia no tubo. Feche bem o tubo.

Swabs faríngeos profundos: Esfregue vigorosamente a parte de trás da orofaringe perto das amígdalas, tomando cuidado para evitar a contaminação da língua e da saliva. Abra um tubo estéril limpo, insira cerca de um terço do bastão do swab e encaixe a alça para que ela se quebre e a ponta do swab caia no tubo. Feche o tubo firmemente.

Swab nasal profundo: Insira a ponta do swabe o mais profundo possível em uma narina e esfregue para remover as células epiteliais. **As narinas** geralmente estão cheias de muco e portanto, deve-se dar atenção para coletar células epiteliais e não somente muco. Abra um tubo estéril limpo, insira cerca de um terço do bastão do swab e encaixe a alça para que ela se quebre e a ponta do swab caia no tubo. Feche bem o tubo.

OBS.: **Swabs conjuntival, nasal e faríngeo** podem ser colocados no mesmo tubo estéril limpo contendo um pequeno volume de solução salina fisiológica e processados juntos. A combinação dos vários Swabs em uma única extração de RNA aumentará a probabilidade de detectar a presença do vírus da cinomose.

Amostra de Creme Leucocitário: O vírus da cinomose tem um alto tropismo pelos glóbulos brancos, portanto, o sangue total coletado no anticoagulante EDTA pode ser um meio adequado para amostragem. Uma amostra enriquecida com glóbulos brancos (*buffy coat*) é preferida.



Coleta do Creme leucocitário:

- Centrifugue o tubo de EDTA a 2500 RPM por 10 minutos em temperatura ambiente.
- Remova cuidadosamente o máximo de plasma possível e o descarte.
- Remova as células do revestimento leucocitário e coloque em um tubo apropriado. Algumas células sanguíneas e plasma podem ser coletadas junto com o creme leucocitário.

Amostra de Urina: Sobrenadantes de 100 a 300 µL de urina coletados por cistocentese ou cateterização uretral. A maioria dos casos neurológicos apresenta amostras de urina positivas, portanto, a urina deve ser incluída como material biológico para cães com sinais neurológicos.

Líquido cefalorraquidiano (LCR): O vírus também pode ser detectado no LCR por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR), porém, nem sempre está presente no LCR, mesmo quando a encefalite por cinomose é confirmada por imunohistoquímica.

OBSERVAÇÃO: Recomenda-se que mais de um tipo de amostra clínica seja avaliada para o vírus da cinomose, considerando as diferentes manifestações clínicas da doença.

COMO AS AMOSTRAS DEVEM SER ARMAZENADAS?

Swabs: Se as amostras forem examinadas dentro de 48 horas após a coleta, mantenha-a a 4°C e transporte em caixas térmicas com o máximo de gelo possível. Já, se amostras não puderem ser processadas dentro de 2 dias, devem ser congeladas, de preferência a -70°C ou menos. O congelamento e descongelamento de amostras deve ser evitado.

Urina e Creme leucocitário: devem ser armazenados em recipientes hermeticamente fechados e mantidos a 4°C. Se as amostras não puderem ser processadas dentro de 2 dias, devem ser congeladas, de preferência a -70°C. O congelamento e descongelamento de amostras deve ser evitado.



Sarah Maurice Ph.D - Head of Research and Development - Biogal Galed Labs Acs.