

20
25 loct

PESQUISA E INOVAÇÃO
USP | FZEA

PORTIFÓLIO
EXAMES

loct

PESQUISA E INOVAÇÃO

USP | FZEA

SUMÁRIO



INTRODUÇÃO

História do laboratório, missão e valores.....01

RECOMENDAÇÕES GERAIS

Recomendações para o envio das amostras ao laboratório....02

BIOLOGIA MOLECULAR

Coleta e envio de amostras.....04
Hemoparasitoses em cães.....05
Leishmaniose em cães.....06
Lifomas caninos.....07
Genotipagem dos alelos A1/A2.....08
Diferenciação de origem materna Bos indicus e Bos taurus...09
Permeabilidade intestinal.....10

MICROBIOLOGIA

Coleta e envio de amostras12
Citologia Direta (Coloração de GRAM).....15
Cultura bacteriana com antibiograma e identificação-
Aeróbios15
Pesquisa de Malassezia spp. (Microscopia direta).....15
Cultura otológica com antibiograma16
Cultura otológica fúngica com antifungigrama.....16
Urocultura com antibiograma.....16
Micológico direto.....17
MIC – Concentração Inibitória Mínima (CIM).....17



Introdução



LOCT- Laboratório de Oncologia Comparada e Translacional

O LOCT, Laboratório do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (USP | FZEA), foi criado em 2011 pelo Prof. Dr. Heidge Fukumasu em Pirassununga/SP.

Inicialmente, o laboratório foi criado com o objetivo de desenvolver pesquisas na área de oncologia comparada e translacional e era localizado em uma sala de 10 m² para o cultivo de células dentro de um laboratório de container. Ao longo dos anos e com recursos captados pelo Dr. Fukumasu (USP, FAPESP, CNPq, CAPES, FINEP e FEALQ), o LOCT cresceu em área e equipamentos.

Com sua robusta infraestrutura e diante da pandemia em 2020, o laboratório integrou a rede de Diagnóstico da COVID-19 do estado de São Paulo para realizar os testes de PCR em tempo real e sequenciamento do vírus, tornando-se referência no diagnóstico rápido e preciso.

O LOCT apoiou laboratórios particulares, prefeituras de 14 cidades e unidades regionais do Instituto Adolfo Lutz das cidades de Rio Claro e Campinas. Foram atendidas mais de 40 cidades perfazendo mais de 180 mil testes de RT-PCR e sequenciamento de 4.000 amostras do vírus integrando a Rede Genômica de Alerta de Variantes do Estado de São Paulo do Instituto Butantan.

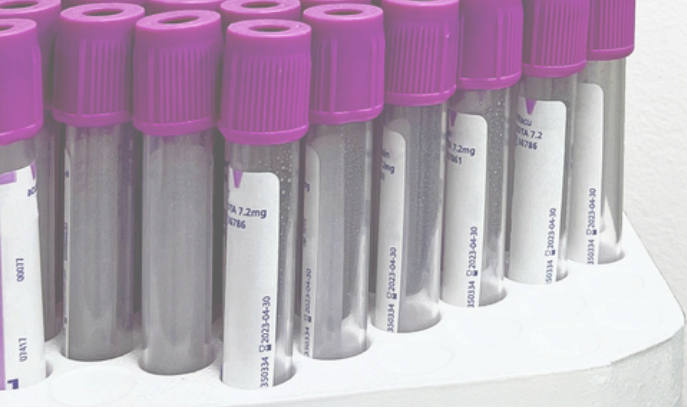
Atualmente, com área construída de 600 m², o LOCT é um espaço multiusuário e que oferece soluções de pesquisa e diagnóstico de precisão, atuando nas áreas de biologia molecular, biotecnologia, cultivo celular e microbiologia, oferecendo uma infraestrutura completa e tecnológica, equipe multidisciplinar extremamente capacitada e um sistema de gestão de qualidade que garante excelência nos serviços prestados.

Missão

Contribuir para o avanço da ciência por meio de pesquisas inovadoras e disruptivas, promovendo o desenvolvimento do conhecimento e transformando ciência em soluções.

Valores

- **Excelência científica**
- **Inovação**
- **Compromisso ético**
- **Formação e colaboração**
- **Responsabilidade social**



Recomendações gerais para envio das amostras ao laboratório

Com o objetivo de assegurar a qualidade analítica dos exames e a integridade das amostras enviadas, solicitamos atenção às seguintes recomendações gerais no momento do envio de materiais biológicos ao nosso laboratório:

- As amostras devem estar devidamente identificadas, contendo de forma legível o nome do paciente, nome do proprietário ou código do animal no sistema SimplesVet.
- Cada amostra deve ser acompanhada de uma requisição física impressa ou, alternativamente, o exame deve estar previamente protocolado no sistema SimplesVet.
- Para a realização adequada dos exames, é necessário observar o volume mínimo de amostra exigido para cada tipo de análise. Essas informações estão disponíveis nas recomendações específicas deste portfólio. Em caso de dúvidas, nossa equipe está à disposição para orientações adicionais.
- Toda amostra deve ser considerada potencialmente patogênica. Após a coleta, o frasco deve ser fechado corretamente e higienizado com álcool 70%.
- O material coletado deve ser encaminhado ao laboratório respeitando os tempos e as condições adequadas de temperatura para transporte e armazenamento, conforme o tipo de exame solicitado.
- O laboratório se reserva o direito de recusar amostras inadequadas ou sem o devido cadastro, tanto no momento do recebimento quanto durante a triagem interna.

O correto preparo e envio das amostras é fundamental para garantir resultados confiáveis e dentro dos prazos estabelecidos. Contamos com sua colaboração.



**BIOLOGIA
MOLECULAR**



Coleta e envio de amostras

- A coleta do material deve ser, sempre que possível, realizada antes da administração de medicamentos e considerando a fase da doença;
- O material para o diagnóstico molecular de Babesia spp. e Ehrlichia spp. é sangue total com EDTA. Recomenda-se a coleta de sangue periférico a partir de ponta de orelha ou cauda para aumentar as chances de detecção do DNA do patógeno;
- Para o diagnóstico de Ehrlichia spp. na fase aguda, é mais recomendado o uso de sangue total por punção venosa. Já em estágios mais tardios, indicam-se materiais como medula óssea e baço.

EXAME	Amostra	Tempo para envio	Temperatura de envio
<u>Ehrlichia spp.</u>	Sangue total com EDTA	Até 48 horas	Refrigerado 2 a 8°C
<u>Babesia spp.</u>	Sangue total com EDTA	Até 48 horas	Refrigerado 2 a 8°C
<u>Leishmania spp.</u>	Sangue total com EDTA Medula com EDTA Aspirado de linfonodo Fragmento de pele Punção de baço	Até 48 horas	Refrigerado 2 a 8°C
PARR	Punção de linfonodos Líquidos cavitários Lâminas de citologia	Até 48 horas -	Refrigerada 2 a 8°C Ambiente
Genotipagem dos alelos A1/A2	25 a 50 bulbos de pelo	-	Ambiente
Determinação de origem materna em bovinos	Mínimo de 2 paletas de sêmen	Até 24 horas	Refrigerado 2 a 8°C
Permeabilidade intestinal	Sangue total com EDTA Plasma com EDTA	Até 2 horas Até 1 mês	Refrigerado 2 a 8°C sem exposição à luz Congelado sem exposição à luz

Hemoparasitoses em cães

Hemoparasitoses são enfermidades causadas por microorganismos intracelulares obrigatórios de células sanguíneas, como protozoários e bactérias. Estas são transmitidas pela picada de artrópodes hematófagos, tendo como principal vetor o carrapato Rhipicephalus sanguineus. No Brasil, as hemoparasitoses são endêmicas e constituem umas das principais causas de mortalidade e morbidade em cães domésticos. O diagnóstico é desafiador devido à sobreposição dos sintomas entre as diferentes doenças. A PCR em tempo real do sangue total é a ferramenta mais sensível e específica, permitindo a detecção precisa na fase aguda da doença.

Diagnóstico molecular para Ehrlichia spp. – Real Time PCR Qualitativo

E. canis, E. chaffeensis, E. ewingii, E. muris

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Sangue total/punção venosa (tubo com EDTA – tampa roxa), medula óssea (tubo com EDTA – tampa roxa) e líquido sinovial (coletor universal estéril).

Volume necessário: Mínimo 1mL do material a ser analisado.

Conservação e Transporte: Manter as amostras refrigeradas entre 2 a 8°C. Enviar ao laboratório em até 48 horas após a coleta.

Diagnóstico molecular para Babesia spp. – Real Time PCR Qualitativo

Babesia canis vogeli

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Sangue total/punção venosa (tubo com EDTA – tampa roxa), medula óssea (tubo com EDTA – tampa roxa) e líquido sinovial (coletor universal estéril).

Volume necessário: Mínimo 1mL do material a ser analisado.

Conservação e Transporte: Manter as amostras refrigeradas entre 2 a 8°C. Enviar ao laboratório em até 48 horas após a coleta.





Diagnósticos

Leishmaniose em cães

A Leishmaniose é causada por protozoários do gênero Leishmania, transmitidos pela picada de mosquitos-palha. É uma zoonose endêmica no Brasil, afetando principalmente cães, que são os principais hospedeiros do agente Leishmania infantum, responsável pela forma visceral.

A doença pode ser assintomática ou apresentar sintomas como perda de peso, lesões cutâneas, febre, fraqueza, anemia e aumento do baço e fígado.

O diagnóstico é desafiador devido à variação dos sintomas. A PCR em tempo real é a técnica mais sensível e específica para detectar Leishmania no sangue ou outros tecidos, sendo essencial para um diagnóstico preciso.

Diagnóstico molecular para Leishmania spp. – Real Time PCR Qualitativo

L. infatum, L. braziliensis.

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Medula óssea (tubo com EDTA – tampa roxa), fragmento de pele com lesão suspeita (coletor universal estéril), aspirado de linfonodo ou baço em swab seco, sangue total (tubo com EDTA – tampa roxa).

Volume necessário: Mínimo 1mL do material a ser analisado (medula óssea ou sangue total).

Conservação e Transporte: Manter as amostras refrigeradas entre 2 a 8°C. Enviar ao laboratório em até 48 horas após a coleta.



Linfomas caninos

Os linfomas são neoplasias comuns em cães, resultantes da expansão clonal de células linfóides. Eles podem afetar linfonodos, baço, fígado e pele, sendo classificados em multicêntrico, tímico, digestivo, cutâneo e extranodal.

A causa do linfoma maligno canino é multifatorial, com fatores genéticos e ambientais. Os sintomas iniciais incluem gânglios linfáticos aumentados e indolores, perda de apetite, letargia, perda de peso, inchaço facial, aumento de sede e micção. O **PCR em tempo real para Rearranjos de Receptores de Antígenos (PARR)** é uma ferramenta essencial para classificar o linfoma, identificando rearranjos genéticos nos receptores de antígenos dos linfócitos. Esse teste permite classificar os linfomas em subtipos como células B, células T e de celularidade mista (B/T). O PCR em tempo real é um diagnóstico complementar às análises citológicas, histológicas e imunohistoquímicas na classificação de linfomas caninos.

Diagnóstico Molecular para Imunofenotipagem de linfoma em cães (ePARR)

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Punção de linfonodos (lâminas em porta lâmina), líquidos cavitários (coletor universal estéril) ou lâminas de citologia coradas (porta lâmina).

Volume necessário: 5 mL de líquido cavitário ou mínimo de 4 lâminas com material visível com esfregaço da punção do linfonodo afetado.

Conservação e Transporte: Manter as amostras de líquido cavitário refrigeradas entre 2 a 8°C. Enviar ao laboratório em até 48 horas após a coleta. Lâminas manter à temperatura ambiente.



Genotipagem dos alelos A1/A2

O leite bovino é uma importante fonte de proteínas na alimentação humana, mas preocupações sobre seus efeitos adversos geraram inovações no setor, como a produção de leite com o selo A2.

As beta-caseínas são as proteínas mais abundantes no leite, representando 25–35% da proteína total. As variantes A1 e A2 dessas proteínas diferem por um único aminoácido. Durante a digestão, a variante A1 libera um peptídeo opióide, a beta-casomorfina 7 (BCM-7), enquanto a A2 não. Estudos sugerem que o BCM-7 pode afetar os sistemas nervoso, endócrino e imunológico.

Por isso, produtores são incentivados a produzir leite A2. Portanto recomenda-se o teste de genotipagem para identificação do genótipo A1/A1, A1/A2 ou A2/A2, determinando qual variante de beta-caseína é produzida.

Genotipagem dos Alelos A1/A2 para o Gene β -caseína

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Pelo da cauda com bulbo acondicionado em envelope de papel.

Volume necessário: Mínimo de 25 a 50 pelos com bulbo.

Conservação e Transporte: Manter à temperatura ambiente.



Diferenciação de origem materna Bos indicus e Bos taurus

O uso do DNA mitocondrial (mtDNA) representa uma ferramenta eficaz e precisa na diferenciação entre Bos indicus e Bos taurus, com base em sua herança exclusivamente materna. Regiões específicas do mtDNA apresentam marcadores genéticos característicos que permitem a identificação segura da origem materna e a distinção entre essas duas subespécies.

Essa metodologia é altamente recomendada para aplicações em controle de qualidade genética, rastreabilidade animal, programas de melhoramento genético e diagnóstico da pureza racial.

Determinação de origem materna em bovinos

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Paleta de sêmen.

Volume necessário: Mínimo de 2 paletas de sêmen por animal.

Conservação e Transporte: Manter as paletas de sêmen refrigeradas entre 2 a 8°C.

Enviar ao laboratório em até 24 horas após a coleta.



Permeabilidade intestinal

A integridade da barreira intestinal é essencial para a saúde e o desempenho das aves, sendo comprometida em situações de estresse, infecções e dietas inadequadas. A avaliação da permeabilidade intestinal permite identificar alterações na mucosa intestinal que favorecem a translocação de substâncias e microrganismos, contribuindo para processos inflamatórios e queda no desempenho zootécnico. O teste por fluorimetria, baseado na administração oral de marcador fluorescente e sua posterior quantificação no sangue, é uma ferramenta sensível utilizada para avaliar a integridade da mucosa intestinal de forma não invasiva.

Permeabilidade intestinal em aves

Marcador utilizado: FITC–dextran (fluoresceína isotiocianato–dextran 4 kDa).

Tipo de amostra e meio de acondicionamento: Sangue total (tubo com EDTA – tampa roxa) ou plasma obtido de sangue total coletado em tubo com EDTA.

Tempo ideal de coleta: 1 hora após a administração oral do marcador.

Volume necessário: Mínimo 3 mL de sangue total ou 1 mL de plasma.

Conservação e Transporte: Amostras de sangue manter refrigeradas entre 2 a 8 °C, no escuro, e enviar ao laboratório em até 2 horas após a coleta. Para amostras de plasma manter congeladas, no escuro, e enviar ao laboratório em até 1 mês após a coleta.



A scientist wearing a white lab coat, a white hairnet, glasses, and a white surgical mask is holding a petri dish with a yellowish substance inside. The scientist is also wearing blue gloves. The background is a laboratory setting with various pieces of equipment and a blurred background. The image has a green and purple color gradient overlay.

MICROBIOLOGIA



Coleta e envio de amostras

- Coletar preferencialmente antes da administração de antibióticos;
- Caso a terapia antimicrobiana já estiver sendo administrada, coletar amostras de sangue ou urina imediatamente antes da próxima dose do medicamento;
- Utilizar materiais estéreis para coleta, como swabs, frascos, tubos ou coletores adequados;
- Priorizar a coleta de locais com tecido vitalizado, evitando a coleta de tecidos necrosados ou de material purulento acumulado em lesões;
- Encaminhar as amostras imediatamente para o laboratório após a coleta;
- Evitar transportar aspirados em seringas com agulha.

Sangue

- **Cuidados especiais:** Realizar tricotomia e assepsia do local de punção. Coletar em frasco específico para hemocultura.
- **Quantidade necessária:** Mínimo 2 mL de sangue.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente e enviar imediatamente ao laboratório.

Feridas, Abscessos e Exsudatos

- **Cuidados especiais:** Higienizar a área e coletar com swab ou seringa estéreis. Remover crostas, se necessário, e coletar abaixo delas, evitando lesões secas e contaminação pela flora normal da pele.
- **Quantidade necessária:** Mínimo de 2 swabs com ou sem meio de transporte Stuart, ou 2mL de líquido.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente e enviar imediatamente ao laboratório.



Coleta e envio de amostras

Fezes

- **Cuidados especiais:** Coletar fezes frescas diretamente do animal ou do ambiente imediato (evitar amostras contaminadas com solo, urina ou outras secreções). Coletar em recipiente estéril com ou sem conservante (Cary Blair) e priorizar fezes diarreicas.
- **Quantidade necessária:** Mínimo de 3 a 5 g de fezes ou 2 mL de fezes líquidas.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente por até 2 horas, após refrigerar entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório dentro de 24 horas.

Urina

- **Cuidados especiais:** Coletar por cistocentese (mais recomendada), por sonda ou micção espontânea. Coletar em recipiente estéril.
- **Quantidade necessária:** Mínimo de 3 a 5 mL.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente por até 2 horas, após refrigerar entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório dentro de 24 horas.

Raspados de pele

- **Cuidados especiais:** Realizar tricotomia e desinfecção da área. Se a lesão estiver seca, umedecer com gaze ou algodão estéril embebido em solução salina. Raspar as bordas da lesão com lâmina de vidro estéril, incluindo crostas ou escamas, evitando sangramento e contaminação por pele sadia.
- **Quantidade necessária:** Uma lâmina de vidro contendo o raspado com lamínula em tubo estéril.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente e enviar imediatamente ao laboratório.

Biopsia de tecidos

- **Cuidados especiais:** Coletar durante o processo cirúrgico e acondicionar em um recipiente estéril.
- **Quantidade necessária:** Mínimo de 2cm de tecido.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente e enviar imediatamente ao laboratório.



Coleta e envio de amostras

Secreções (nariz, ouvido, traquéia, pulmão, líquido sinovial etc.)

- **Cuidados especiais:** Coletar com swab estéril ou aspiração com técnica asséptica. Acondicionar em um recipiente estéril.
- **Quantidade necessária:** Mínimo de 2 Swabs sem ou com meio de transporte Stuart, ou seringa com secreção.
- **Recomendações para transporte:** Manter em temperatura ambiente e enviar imediatamente ao laboratório.

Amostra	Tempo para envio	Temperatura de envio	Meio de acondicionamento
Sangue	Imediato	Ambiente	Frasco de hemocultura
Feridas/Abscessos/ Exsudatos	Imediato	Ambiente	Frasco estéril com ou sem meio semi-sólido (Stuart)
Fezes	24 horas	Refrigerado 2 a 8°C	Frasco estéril com ou sem conservante (Cary Blair)
Urina	24 horas	Refrigerado 2 a 8°C	Frasco estéril
Raspados de pele	Imediato	Refrigerado 2 a 8°C	Uma lâmina de vidro contendo o raspado com lamínula em tubo estéril.
Biópsia de tecidos	Imediato	Ambiente	Frasco estéril
Secreções	Imediato	Ambiente	Frasco estéril com ou sem meio semi-sólido (Stuart)/seringas

Microbiologia Veterinária

A microbiologia veterinária no LOCT dedica-se à identificação e caracterização de microrganismos patogênicos em pequenos animais, essencial para orientar terapias direcionadas e eficazes. A identificação de microrganismos é feita por espectrometria de massas MALDI-TOF, que proporciona resultados rápidos e de alta precisão.

Citologia Direta (Coloração de GRAM)

Tipo de amostra: Swab ou esfregaço coletado da região suspeita de infecção.

Meio de acondicionamento: Swab em frasco estéril e lâminas (porta lâmina).

Quantidade necessária: Mínimo de 2 swabs ou 2 lâminas.

Transporte: Manter em temperatura entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório em até 24 horas após a coleta.

Cultura bacteriana com antibiograma e identificação - Aeróbios

Tipo de amostra: Swab, líquidos biológicos (urina, secreções, exsudatos), fezes, tecidos, aspirados, entre outros, coletados da região suspeita de infecção.

Meio de acondicionamento: Frasco estéril.

Quantidade necessária: Mínimo de 2mL para líquidos, 2 swabs e 1 cm³ para tecidos.

Transporte: Manter em temperatura entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório em até 24 horas após a coleta.

Pesquisa de Malassezia spp. (microscopia direta)

Tipo de amostra: Swab de secreções.

Meio de acondicionamento: Swab em frasco estéril ou em meio de transporte Stuart.

Quantidade necessária: Mínimo de 2 swabs.

Transporte: Manter em temperatura entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório em até 24 horas após a coleta.





Cultura otológica com antibiograma

Tipo de amostra: Swab de secreção auricular.

Meio de acondicionamento: Swab em frasco estéril ou em meio de transporte Stuart.

Quantidade necessária: Mínimo de 2 swabs.

Transporte: Manter em temperatura entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório em até 24 horas após a coleta.

Cultura otológica fúngica com antifungigrama

Tipo de amostra: Swab de secreção auricular.

Meio de acondicionamento: Swab em frasco estéril ou em meio de transporte Stuart.

Quantidade necessária: Mínimo de 2 swabs.

Transporte: Manter em temperatura ambiente. Enviar ao laboratório em até 12 horas após coleta. Para envios com tempo superior a 12 horas, as amostras devem ser acondicionadas em meio de transporte Stuart e refrigeradas entre 2 a 8 °C.

Urocultura com antibiograma

Tipo de amostra: Urina recentemente coletada.

Meio de acondicionamento: Frasco coletor estéril.

Quantidade necessária: Mínimo de 3ml de urina.

Transporte: Manter em temperatura entre 2 a 8 °C. Enviar ao laboratório em até 12 horas após coleta.



Micológico direto

Tipo de amostra: Raspado de pele, raspado de pelo, líquido, secreção vaginal ou uretral, etc.

Meio de acondicionamento: Swab em frasco estéril e lâminas (porta lâmina).

Quantidade necessária: Mínimo de 1 lâmina para raspados, 1 swab para secreções e 2 mL de líquido.

Transporte: Manter em temperatura ambiente. Enviar imediatamente ao laboratório, preferencialmente até 2 horas.

MIC – Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Tipo de amostra: Cultura microbiológica (geralmente swab de secreção ou biópsia).

Meio de acondicionamento: Swab ou biópsia em frasco estéril.

Quantidade necessária: Mínimo de 1 swab ou 1 amostra de tecido (geralmente 1 a 2 cm).

Transporte: Manter em temperatura ambiente, evitar temperaturas extremas. Enviar imediatamente ao laboratório, preferencialmente até 2 horas após a coleta.