

Métodos Imunológicos: Aplicações, Comparações e Avaliações Críticas Específicas

Prof. Paulo Jaconi Saraiva

Imunoensaios

- São técnicas utilizadas para a detecção e a quantificação de antígenos e anticorpos, podendo utilizar reagentes marcados ou não marcados.

Reações Imunológicas

- Precipitação
- Aglutinação
- Neutralização
- Fixação do Complemento
- Citotoxicidade

Reações Imunológicas

- Imunofluorescência
- Radioimunoensaio
- Enzaimunoensaio

Reações Imunológicas

- Turbidimetria
- Nefelometria
- Quimioluminescência
- Imunofluorimetria
- Fluorescência Polarizada
- Imunoeletrotransferência
- Citometria de Fluxo

Parâmetros para Validação de Reações Imunológicas

- Sensibilidade
- Especificidade
- Afinidade
- Avidéz
- Exatidão
- Precisão
- Reprodutibilidade
- Limiar de Reatividade

Fatores que Interferem nas Reações Imunológicas

- Reações Cruzadas
- Efeito Prozona
- Efeito Hook
- Potencial Zeta
- Anticorpos Heterófilos
- Tempo
- Temperatura

Doenças Infecciosas

- Sífilis

TESTES UTILIZADOS PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS

- Floculação
- Aglutinação
- Hemaglutinação
- Imunofluorescência { Direta
Indireta
- Enzaimunoensaio

Percentagem de pacientes reativos em testes sorológicos para sífilis

<u>Teste</u>	<u>Primária</u>	<u>Secundária</u>	<u>Latente</u>	<u>Terciária</u>	<u>Congênita</u>
VDRL	70	100	80	65	85
RPR	75	100	80	75	98
FTA ABS	85	100	98	98	99
HAI	75	100	98	95	99
EIE	90	100	88	95	98

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA SÍFILIS

TESTE	CASO 1	CASO 2	CASO 3	CASO 4
VDRL	Reagente	Reagente	Não reagente	Não reagente
HAI	Reagente	Não reagente	Não reagente	Reagente
IFI	Reagente	Não reagente	Reagente	Reagente
EIE	Reagente	Não reagente	Reagente	Reagente

REAÇÕES FALSO-POSITIVAS PARA SÍFILIS

AGUDAS:

- Epstein – Barr vírus
- Rickettsias
- Vacinação
- Gestação
- Drogas (Medicamentos – tóxicos)

CRÔNICAS:

- Tuberculose
- Lepra
- Doenças auto – imunes
- Geriátricos

Doenças Infecciosas

- Clamídia

Clamídia

Espécies e sorotipos

Doenças

Chlamydia psittaci



Psitacose

Chlamydia pneumoniae



Pneumonia

Chlamidia trachomatis

A, B, Ba, C



Tracoma

D, E, F, G, H, I, J, K

Conjuntivite

Cervicites

Proctites

Uretrites

Epididimites

Salpingites

L1, L2, L3

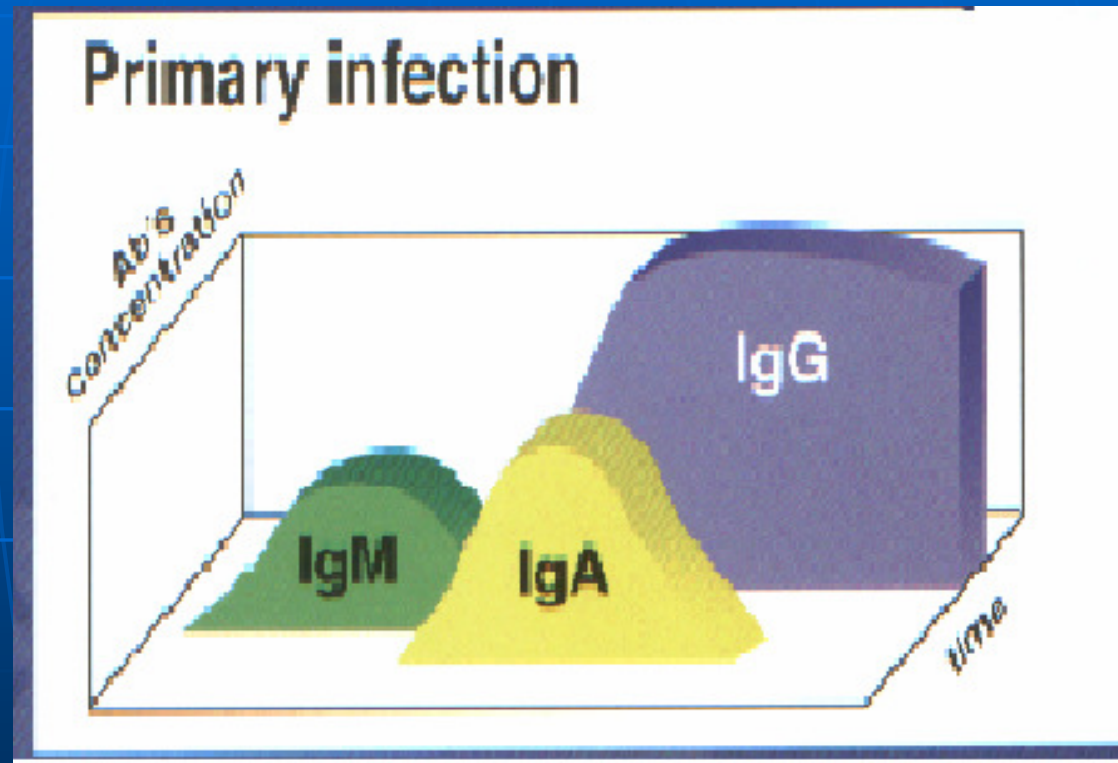


Linfogranuloma

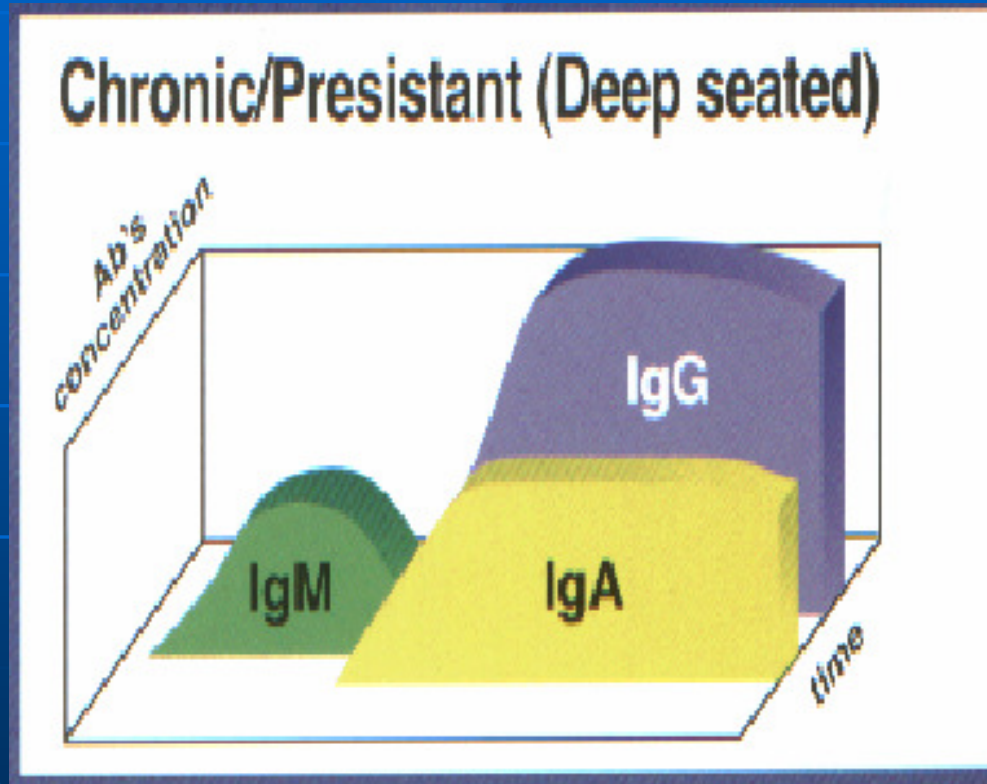
Chlamydia trachomatis

- A infecção é assintomática em até 50% dos homens e em 70 a 80% das mulheres.
- No homem a clamídia é responsável por 30 a 50% dos casos de uretrite não gonocócica e quando não tratada pode causar artrite ou síndrome de Reiter.
- A infecção genital, mesmo assintomática, pode causar salpingite, doença inflamatória pélvica (DIP), infertilidade e gravidez ectópica.

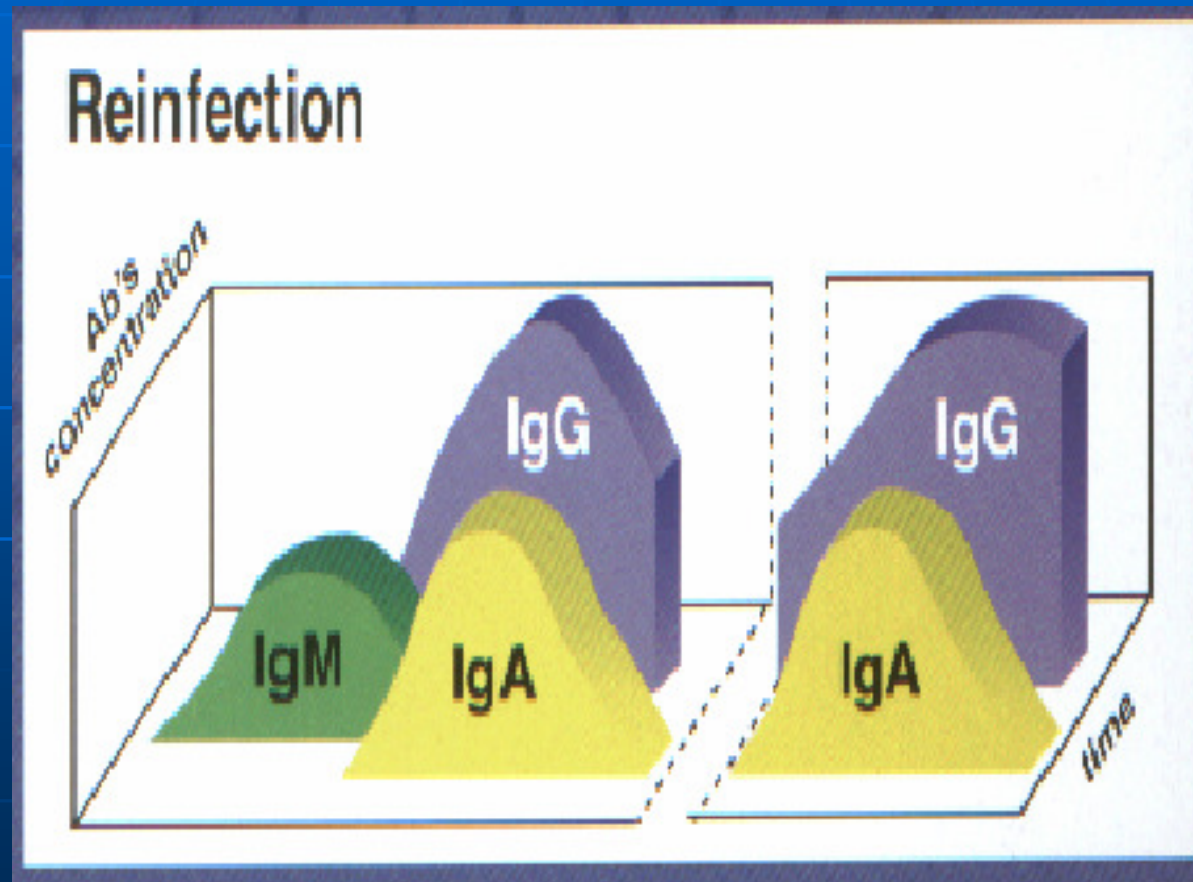
Chlamydia trachomatis



Chlamydia trachomatis



Chlamydia trachomatis



Doenças Infecciosas

- Toxoplasmose

Perfil 1

- Anti-IgG – não reagente
- Anti-IgM – não reagente
- Paciente susceptível
- Profilaxia primária
- Gestante: fazer o exame mensalmente durante a gravidez

Perfil 2

- Anti-IgG – reagente
- Anti-IgM – não reagente
- Valor elevado de anticorpos: avaliação com outros parâmetros
- Valor baixo de anticorpos: provável imunidade

Perfil 3

- Anti-IgG – reagente
- Anti-IgM – reagente
- Verificar concentração de anticorpos
- Fazer testes de avidéz de IgG
- Fazer para anticorpos IgA

Perfil 4

- Anti-IgG – reagente
 - Anti-IgM – reagente
 - Anti-IgA – não reagente
 - IgG avidéz – valor alto (superior a 60%)
-
- Prováveis anticorpos residuais/memória
 - Se gestante até o 4º mês, soro conversão fora do período de gestação

Perfil 5

- Anti-IgG – reagente
 - Anti-IgM – reagente
 - Anti-IgA – reagente
 - IgG avidéz – valor alto (acima de 60%)
- Se gestante após o 4^o mês, repetir os exames e avaliar procedimento terapêutico

Perfil 6

- Anti-IgG – reagente
- Anti-IgM – reagente
- Anti-IgA – reagente
- IgG avidéz – valor baixo (inferior a 20%)
 - Provável toxoplasmose aguda
 - Se gestante, provável soro conversão durante a gravidez, com risco de transmissão fetal

Doenças Infecciosas

- Hepatites
 - A – HAV
 - B – HBV
 - C – HCV

Avaliação das Hepatites

- Sintomas.
- Avaliação Clínica.
- Avaliação Laboratorial:
 - Bioquímica
 - Sorológica
 - Molecular

Avaliação Bioquímica

Provas que refletem alteração do hepatócito:

- Alanina – Aminotransferase.
- Aspartato – Aminotransferase.
- Gama Glutamil Transferase.

Avaliação Bioquímica

Provas que refletem alteração do hepatócito:

- Bilirrubinas.
- Eletroforese de Proteínas.
- Fatores de coagulação.

Avaliação Bioquímica

Provas que refletem alteração do fluxo biliar:

- Fosfatase Alcalina.
- Gama Glutamil Transferase.
- Bilirrubinas.

Avaliação Imunológica

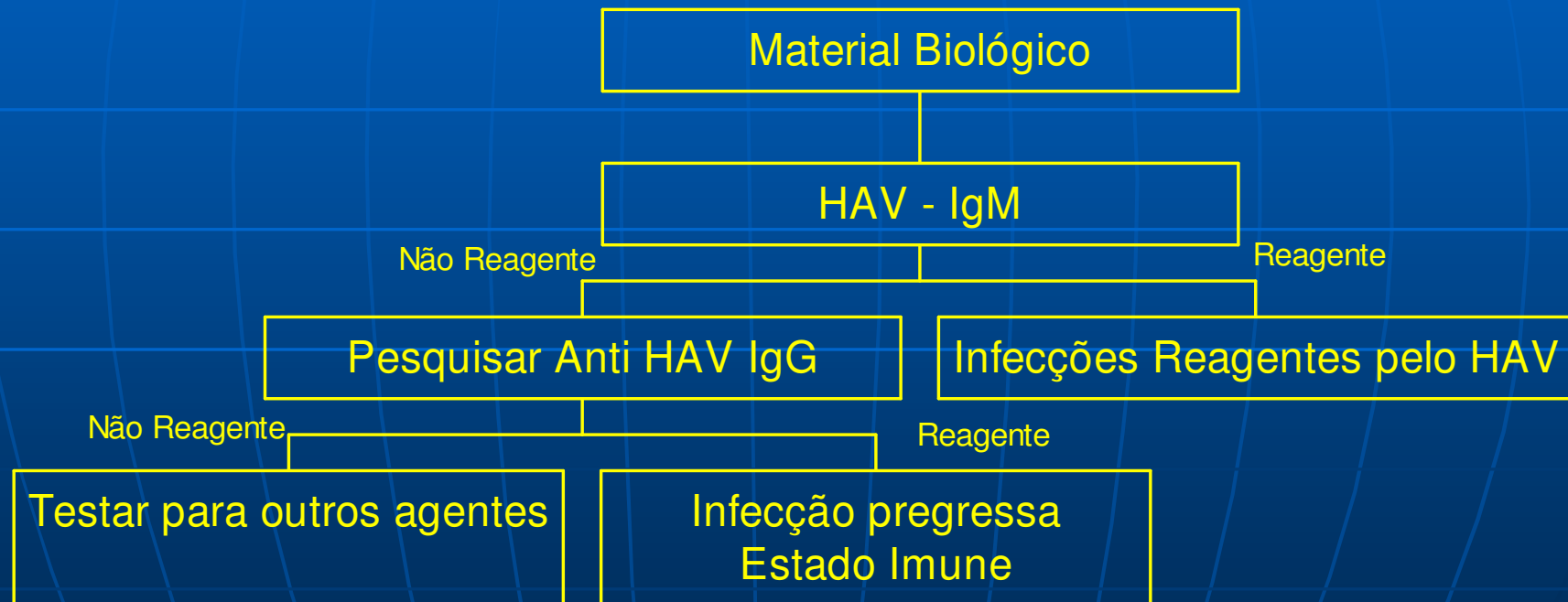
- Imunodifusão Radial.
- Contra-Imunoeletroforese.
- Radioimunoensaio.
- Imunofluorimetria.
- Quimioluminescência.
- Eletroquimioluminescência
- Imunoeletrotransferência.

Biologia Molecular

- **PCR** - Polymerase Chain Reaction
- **NASBA** - Nucleic Acid Based on Amplification.
- **LCR** - Ligase Chain Reaction.
- **b-DNA** - Branched DNA.

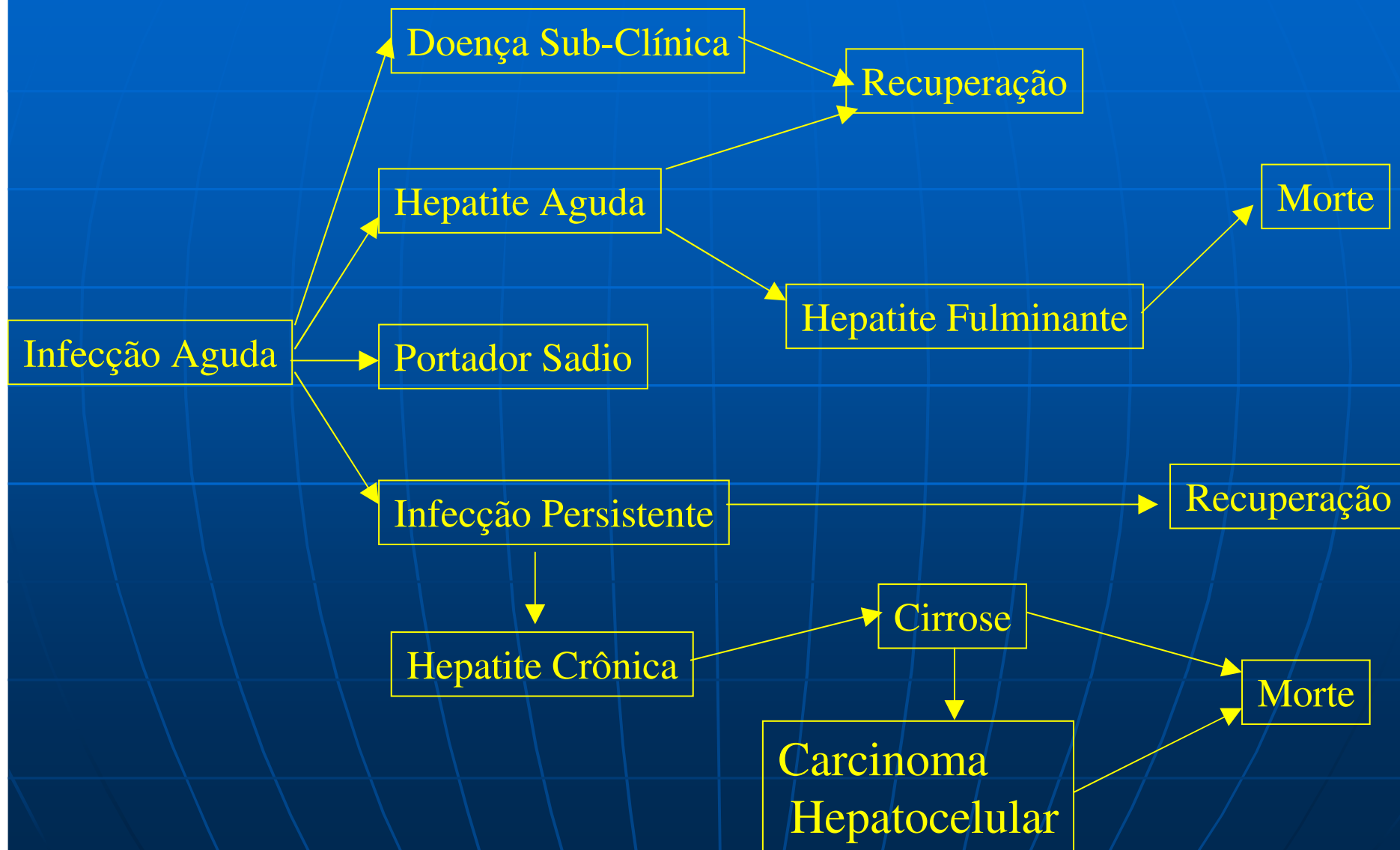
Hepatitis A

Hepatite A



Hepatite B

Hepatite B



Marcadores da Hepatite B

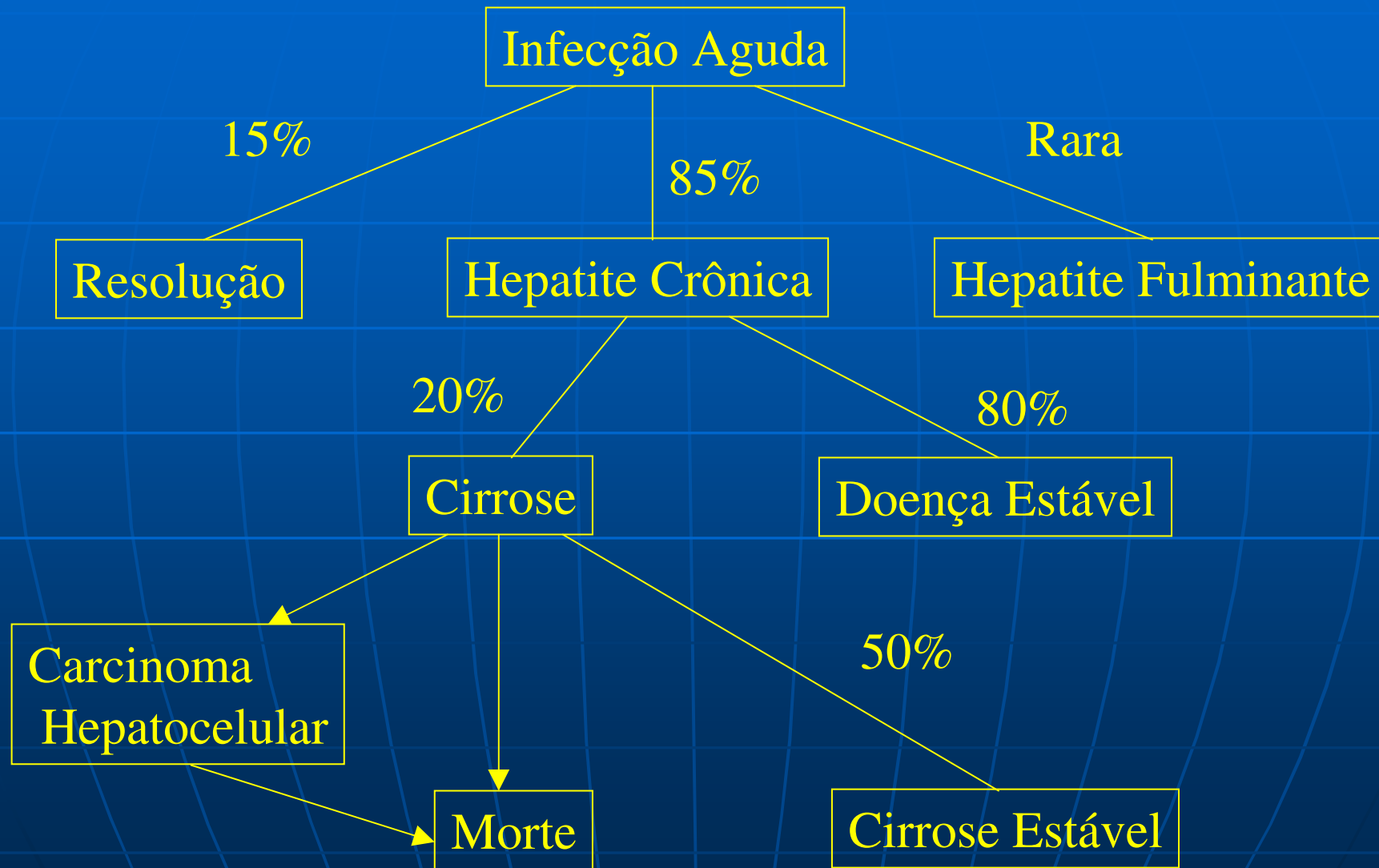
Marcador	Característica
HBV-DNA	Indica replicação ativa
HBsAg	Primeiro marcador da infecção pelo HBV
HBeAg	Indica replicação viral ativa
Anti-HBc IgM	Indica infecção aguda e replicação viral
Anti HBc Total	Indica infecção atual ou pregressa
Anti HBe	Indica bom prognóstico de recuperação
Anti HBs	Indica recuperação ou imunidade

Marcadores Sorológicos e Estado Clínico na Hepatite B

HBV-DNA	HBeAg	HBsAg	Anti HBc Total	Anti HBc IgM	Anti Hbe	Anti HBs	Infectividade	Estado Clínico
+		+					Alta	I. aguda
+	+	+	+	+			Alta	I.A. / R.V.
		+	+	+			Alta	I./ fim RV
			+	+			Potenc.	Jan.Imun.
			+	+	+		Potenc.	Convalesc.
			+		+	+	Não	Rec./Im.
+	+	+	+				Alta	I.C/Replic.
		+	+		+ / -		Alta	Inf.Crôn.
						+	Não	Imunizado

Hepatitis C

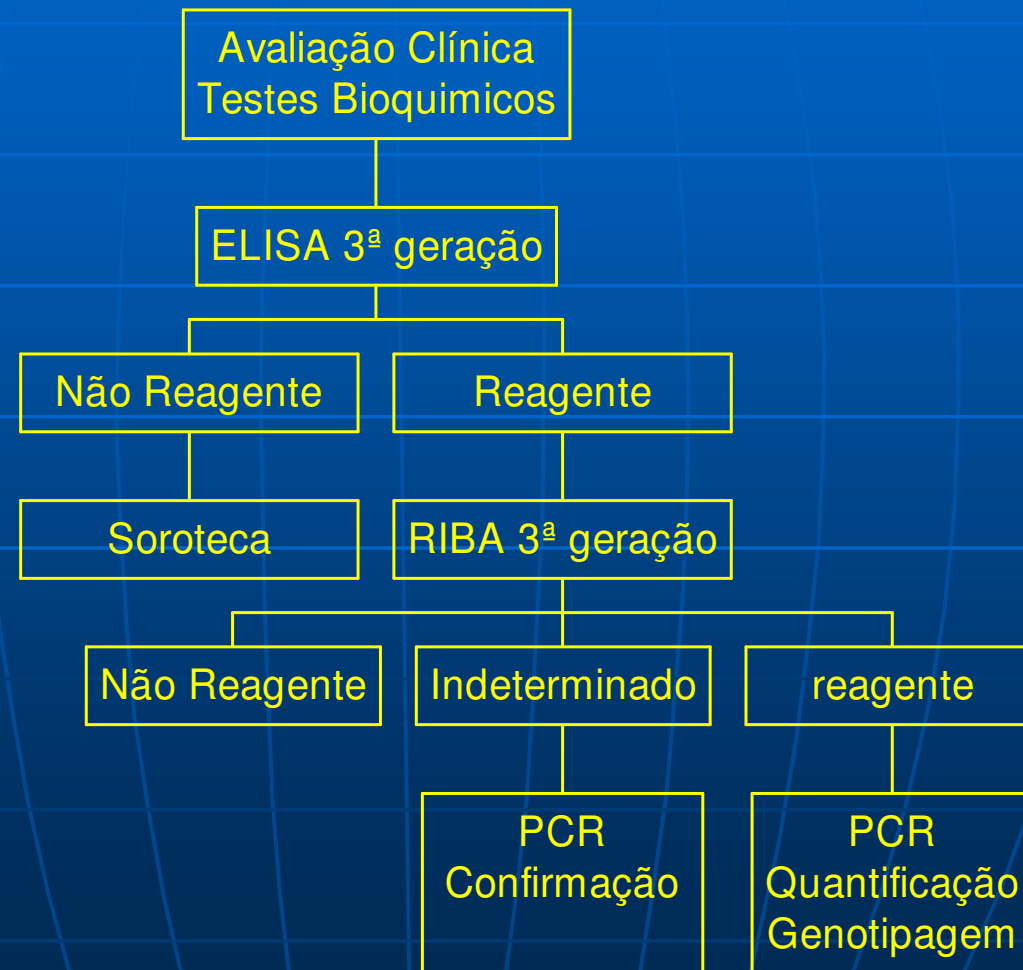
Hepatite C



Testes Utilizados para o Diagnóstico do HCV

Ensaio	Antígeno/Primer	Observação
ELISA 1ª geração	C100/NS3	Sensibilidade baixa
ELISA 2ª geração	C22/C33c/C100 NS3	Sensibilidade alta
ELISA 3ª geração	C22/C33c/C100 NS3/NS5	Detecção precoce
RIBA 2ª e 3ª geração	C22/C33c/C100 NS3/NS4/NS5	Confirmatório
PCR-RMA	Vários Primers	Confirmatório - genotipagem

Hepatite C



Limitações do Imunodiagnóstico do HCV

1. Distinção não evidente entre Hepatite C aguda e Hepatite C crônica, devido ao aparecimento inconsistente do anti-HCV IgM

Limitações do Imunodiagnóstico do HCV

2. Resultados falso-positivos:

- Doença hepática auto-imune
- Hipergamaglobulinemia
- Crioglobulinemia tipo 3
- Vacinação para Influenza

Limitações do Imunodiagnóstico do HCV

3. Resultados falso-negativos:

- Indivíduo portador de HIV
- Variação genotípica

Distribuição dos Subtipos de HCV no Brasil

