

IMUNODIAGNÓSTICO GERAL: HUMANO E VETERINÁRIO

SILVA, R. da¹
RUAS, E. A.²

RESUMO

O estudo do sistema imunológico consiste em entender os mecanismos fisiológicos que trabalham para combater organismos invasores que podem afetar a homeostase dos organismos humanos e animais. O sistema imunológico é subdividido em imunidade inata e adaptativa. O imunodiagnóstico deriva da junção da palavra imune oriundo do latim com o termo diagnóstico de origem grega, mencionando aprendizado ou precisão de componentes do sistema imunológico ou a eles associados. Os testes de imunodiagnósticos são eficazes no controle de doenças e na administração de vacinas contra algumas doenças nas das quais podemos citar o sarampo, a imunização contra poliomielite e tétano. O objetivo do presente trabalho é apresentar o conceito de imunodiagnóstico Foi realizada uma revisão bibliográfica específica, através de análise textual, temática e interpretativa, utilizando artigos, periódicos e livros sobre o tema escolhido . Entende-se que as técnicas de imunodiagnóstico são de grande importância, pois auxiliam na descoberta de patógenos causadores de doenças, além de participar da medicina preventiva e curativa.

Palavras-chave: Imunidade. Testes. Patógenos. Doenças.

ABSTRAT

The study of the immune system consists in understanding the physiological mechanisms that work in fighting invading organisms that may affect the homeostasis of human and animal organisms. The immune system is divided into innate and adaptive immunity. The immunodiagnostic derived from the junction of the immune word derived from the Latin term with the diagnosis of Greek origin, citing learning or precision components of the immune system or associated with them. Immunodiagnostic tests are effective in disease control and administration of vaccines against certain diseases in which we can mention the measles, immunization against polio and tétano. The goal of this study is to present the concept of immunodiagnostic, a theme review through textual analysis, thematic and interpretive, using articles, journals and books. It is understood that the immunodiagnostic techniques are very important because they help in the discovery of disease-causing pathogens, in addition to participating in the preventive and curative medicines.

Keywords: Immunity. Tests. Pathogens. Diseases.

¹ Rosilei da Silva. Graduando do Curso de Licenciatura de Ciências Biológicas. Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2015.

² Eduardo Augusto Ruas. Docente do Curso de Licenciatura de Ciências Biológicas. Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2015.

1 INTRODUÇÃO

O sistema imunológico consiste no sistema de defesa do organismo que trabalham para combater organismos invasores em humanos e alguns animais. Esse sistema é significativo para persistência humana, sendo que, no afastamento de um processo imune ativo, uma simples bactéria tornar-se-ia fatal.

O sistema imune precisa reconhecer o micro-organismo agressor à medida que, talvez no primeiro contado com uma bactéria, um vírus entre outros agressores, o indivíduo chega a correr um alto risco até que este sistema se torne capaz de prontamente reconhecer este invasor, conferindo ao organismo um histórico de imunidade. (PARHAM, 2011, p. 1).

Iniciando uma proteção para a estrutura humana a pele ajuda no combate à infecções, sendo composta por um conjunto de elementos que a torna impenetrável à patógenos. Ininterrupto a pele tem-se os epitélios que revestem tratos respiratórios, gastrintestinais e urogenitais que compõe estruturas mucosas. Nessas faces internas, tecidos interagem e são mais suscetíveis a invasões de natureza microbiana e por isso apresentam componentes imunológicos específicos para sua defesa. Esses são alguns meios que o organismo encontra para se proteger mantendo barreiras mecânicas, químicas e microbiológicas para impedir que os patógenos se instalem nas células e tecidos corporais. Contudo quando ainda assim essas defesas falham e os patógenos alcançam tecidos moles corpóreos o sistema imune inato entra em ação. (PARHAM, 2011, p. 6).

Parham (2011, p. 9) ressalta que a imunidade inata trabalha “reconhecendo os patógenos com assessoria de proteínas solúveis e receptores de superfície celular, que se fixam aos patógenos e seus elementos ou a células humanas e proteínas do soro, revertendo-as no contato com patógenos”. Passado este reconhecimento, começa o engajamento de “mecanismos efetores destrutivos que demolem e eliminam os elementos estranhos ao organismo”.

Microrganismos como bactérias, vírus, protozoários e helmintos, tem nos animais uma fonte nutricional e um ótimo casulo para se abrigar. Consequentemente um número exorbitante de microrganismos se instalou na superfície corporal, dominando o intestino e a pele dos animais. Estes que levam a definição de simbiontes atuam de forma a proteger os organismos obtendo deles fonte de alimento e abrigo e geralmente não lhe causando danos. Porém, organismos

invasivos tentam adentrar o organismo de animais e esses por sua vez, acarretam doenças, nos tecidos e células, fazendo com que o sistema imunológico do mesmo tenha que entrar em ação para combatê-los. [...] Um sistema imune eficiente não é apenas útil, mas fundamental para a manutenção da vida e são os sinais e respostas originadas deste sistema quando invadido, que mantém saudável um indivíduo. (TIZARD, 2014, p. 2-3).

No entanto, quando o sistema imunológico não é capaz de lidar com o processo infeccioso, se faz necessário técnicas que permitam uma intervenção médica precisa e pontual. Dentro deste cenário é importante enfatizar as técnicas de imunodiagnósticos que são testes que determinam respostas imunes de anticorpos, antígenos ou linfócitos para detectar de forma exata a presença de invasores dentro do organismo. Estes testes constata-se os diagnósticos de infecções, e assim se verifica a imunidade, processos alérgicos ou neoplásicos como também a identificação e quantificações de hormônios ou drogas. (STRECK *et al*, 2007).

Os testes de imunodiagnósticos manuseiam como reagentes os antígenos e/ou seus componentes para identificar anticorpos ou linfócitos, a medida que, para encontrar antígenos, anticorpos são utilizados. Alguns exemplos a serem citados de testes de imunodiagnósticos notáveis com alta precisão destacam-se, Soroaglutinação rápida em placa (SARP), Imunodifusão em gel de ágar (AGID), Inibição da Hemaglutinação (HI), Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). (STRECK *et al*, 2007).

O objetivo do presente trabalho é apresentar o conceito de imunodiagnóstico, descrever suas técnicas, métodos e sua importância na medicina humana e veterinária.

METODOLOGIA

O trabalho consiste em uma revisão bibliográfica específica, com utilização de análise textual, temática e interpretativa. A busca foi realizada nas bases de dados: PUBMED, GOOGLE ACADÊMICO, REVISTA NEUROCIÊNCIA, REVISTA CIENTIFICA FMC, com o manuseio de livros e artigos científicos, que retratam como base o tema Imunodiagnóstico.

RESULTADO

Imunidade e Imunologia

Uma das definições de imunidade, seria a relutância a doenças, em especial doenças infecciosas. Essas infecções são fortemente combatidas em nosso organismo por células, tecidos e moléculas que em conjuntos formam o sistema imunológico, que ao detectar a presença de algo estranho como um micro-organismo infeccioso, esse sistema de defesa define uma resposta contra esses agentes infecciosos, a resposta imunológica. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

Imunologia é área da ciência que estuda sistema imunológico e os micro-organismos invasores. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

O organismo animal tem um mecanismo de defesa competente e altamente protetor, que ao analisar constantemente o organismo em geral, detecta e defende-se de inúmeros seres microbianos existentes no meio, através de mecanismos específicos ou inespecíficos, isolados ou unidos.

Imunidade Inata (natural) e Imunidade adquirida (adaptativa)

Imunidade Inata, também conhecida como imunidade natural se encontra em todos os indivíduos considerados saudáveis. Essa defesa do organismo esta preparada para frear a invasão de micro-organismos e/ou expulsar com precisão e rapidamente os que conseguiram passar por essa barreira e se instalar nos tecido do hospedeiro. Já evoluindo tardiamente encontra-se a imunidade adquirida, conhecida como imunidade adaptativa, que se adapta a presença de organismos invasores. Este tipo de imunidade necessita de uma expansão e diversificação de linfócitos em respostas a micro-organismos para que realize como sucesso uma resposta eficiente, se adaptando aos invasores microbianos. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

As reações correspondentes aos anticorpos são descritas como humorais. A imunidade humoral é mediada por anticorpos que estão presentes em várias partes corpóreas e nas secreções das mucosas, os anticorpos são produzidos por células intituladas linfócito B e/ou células B. O trabalho dos anticorpos seria reconhecer antígenos microbianos, neutralizando a eficácia destes invasores ao contaminar o

organismo humano, eliminando-os através de um conjunto de proteção por mecanismos efetores, além disso, os anticorpos dificultam e até mesmo bloqueiam as passagens de patógenos que, situados no sangue e nos mucos corpóreos chegam às células e os tecidos conjuntivos do indivíduo formando colônias. (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

Diagnóstico

O diagnóstico de uma doença é dado através de muitos fatores, tais como, histórico clínico familiar do paciente, exames clínicos e testes laboratoriais. Através do conhecimento específico do médico, serão solicitados exames que comprovem o estado clínico do paciente, testes de rastreio que constatarem fatores químicos, microbianos e genéticos que distinguem uma doença.

Os testes laboratoriais são realizados e analisados de acordo com avaliações como, idade do paciente e sexo. Já os resultados serão considerados dentro dos valores julgados normais e enfim entregues ao médico como fonte de informação. Normalmente são realizados em amostragem de sangue e urina, sendo que o resultado influencia no modo de vida do indivíduo e adaptação a uma nova rotina indicando um tratamento, como exemplos desses exames o hemograma, cultura da urina. (MALAJOVICH, 2012, p. 215).

A saúde no geral, caso ocorra negligência no pedido desses exames e se os métodos laboratoriais não forem manuseados por pessoas competentes pode ser prejudicada acarretando complicações como infecções agravadas.

TÉCNICAS DE IMUNODIAGNÓSTICO

As técnicas imunológicas consistem basicamente na interação antígeno-anticorpo, sendo que o anticorpo por ter alta especificidade e auxilia na constatação, isolamento ou no cálculo de um antígeno típico. Com as técnicas específicas para o caso o conjunto celular são analisados e assimilados através de métodos de marcações de superfície, imunofluorescentes e histoquímicas são técnicas bastante utilizadas. Além de identificadas as populações celulares podem ser isoladas através

de separação das células por métodos de fluorescência, plaqueamento e centrifugação (densidade- dependente). (ROITT, 1999, p. 381).

Lenz 2004 relata em seu artigo sobre métodos imunológicos, que as técnicas não dependem apenas de análises bioquímicas, mas possui uma ampla área de pesquisa para o diagnóstico exato. Muitas vantagens são vistas com técnicas imunológicas, porém para o sucesso das análises a especificidade aos anticorpos e sensibilidade dos métodos é necessário para que as técnicas tenham veracidade. Os métodos são divididos em técnicas de purificação e quantificação e análise. (LENZ, 2004).

Soro-Aglutinação Rápida em Placa (SARP)

A técnica denominada de SARP é um teste sorológico simplificado, manuseado em uma superfície de vidro, sendo uma lâmina simples ou uma placa exclusiva para o teste. Para a realização desse método homogeneiza-se na superfície de uma lâmina uma gota de antígeno comercial e uma gota de amostra do soro humano ou animal, agitando suavemente por pelo menos um minuto. Para leitura desse, são utilizadas lentes e a incidência de luzes, e/ou apenas olho nu. Se existir por fim, anticorpos específicos denominados aglutininas no soro, poderá se formar grumos ou ainda floculação, produzida pelo agrupamento antígeno-anticorpo. Ao constatar esses grumos é confirmado que na amostra exista anticorpos específicos. (STRECK *et al*, 2007).

A formação desses grumos é intitulada aglutinação, fenômeno que ocorre sem grau específico, favorecendo a marcação de tabelas comparativas, caso as concentrações existentes de anticorpos sejam altas ou baixas. Todavia, se for confirmada uma alta concentração de anticorpos na reação, poderá ocorrer a inibição da reação de aglutinação, sendo esse evento conhecido como pro- zona. (STRECK *et al*, 2007).

A técnica em questão é um método vulnerável, apresentando baixa especificidade, sendo qualitativo. Esse teste é realizado apenas em populações suínas, devido à presença de fenômenos como pro-zona. Geralmente esses testes auxiliam diagnóstico de doenças como, leptospirose, febre suína, salmonelose. (STRECK *et al*, 2007).

Imunodifusão em Gel de Ágar (AGID)

A imunodifusão em gel de Agar é uma técnica acessível que se dá pela precipitação de antígenos por anticorpos, oportunizando a observação dos mesmos na linha de precipitação do complexo antígeno-anticorpo. A reação utilizada para essa técnica é a difusão dupla, em que o antígeno e o anticorpo podem se locomover livres no meio semi-sólido como ágar/agarose. (STRECK *et al*, 2007).

Para essa técnica que utiliza uma placa de petri ou uma lâmina aquecida de agarose, até que se forme uma camada solidificada, entre 2 e 4 mm de espessura. Com a solidificação dessa camada em gel realizam-se perfurações circulares formando cavidades, que medem 5 mm de diâmetro com um espaçamento de 10mm entre eles. É comum que essa técnica seja explorada com um sistema radial de perfurações, dispendo de uma cavidade centralizada onde é acrescentado o antígeno comercial e outras cinco cavidades periféricas, onde inseridas as amostras de soros para os testes; logo depois encuba - se em camada úmida por 48 até 72 horas. Devido sua solubilidade e massa molecular, os anticorpos existentes no soro e os antígenos irão se dispor radialmente no gel de Agar, ao juntar reagentes amostras serão obtidas ótimas concentrações ocorrendo enfim o complexo antígeno-anticorpo, o qual manifestara uma linha de precipitação branca e opaca. Para a leitura do teste e visualização da precipitação, utiliza-se um ponto de luz como material em fundo preto em uma sala escura. (STRECK *et al*, 2007, RODRIGUES; AVANZA; ZAPPA, 2009).

A vantagem desse teste é o custo acessível e a simplicidade de aplicação. Essa técnica é manuseada até em laboratórios de pequeno porte, já que para o procedimento não se utiliza materiais especiais e sua dificuldade é de apenas uma sensibilidade atrasada necessitando de pelo menos 48 horas. (STRECK *et al*, 2007).

Tendo como exemplo de doença detectada por esse exame, a Anemia Infecciosa Equina, sendo infecciosa e transmitida secundariamente por mosquito, o meio exato de controle da doença é o exame laboratorial, no qual é utilizado 2,0 de soro do animal infectado, manter congelado até chega em um laboratório pelas Mãos de um médico veterinário, se caso o exame for positivo, isola-se o animal para cuidados específicos e o meio onde esse equino se encontrar ficará interditado. (RODRIGUES; AVANZA; ZAPPA, 2009).

Hemaglutinação (HI)

A Técnica de Hemaglutinação consiste na avaliação de anticorpos que ao reagir com antígenos induzem a aglutinação de hemácias. Por possuírem estruturas diferenciadas, alguns microrganismos se ligam a receptores encontrados nas hemácias, executando o fenômeno de hemaglutinação (HA). (STRECK *et al*, 2007).

A positividade deste teste ajuda a indicar qualificar os anticorpos. Os proveitos tirados desse método são especificidade e sensibilidade, o que dá a esse resultado a exatidão semelhante a testes modernos e caros. Utiliza-se esse método para detectar doenças como influenza, reovirose e outras. (LENZ, 2004, STRECK *et al*, 2007).

Os anticorpos do reagente ou amostras possuem especificidade pelo substrato, assim se usa essa malícia para purificar as proteínas, nesse caso entra as técnicas de purificação que são divididas em métodos de imunoprecipitação e cromatografia por afinidade. (LENZ, 2004).

Imunoprecipitação

Na imunoprecipitação o anticorpo do reagente ou amostra liga-se a agarose mediado pela proteína A ou pela biotina/estreptoavidina, ou seja, conecta-se o anticorpo com a proteína A, e essa integração é adicionado ao lisado celular. Após precipitação e centrifugação as amostras podem ser lavadas e analisadas. (LENZ, 2004).

Cromatografia por Afinidade

Na cromatografia por afinidade os anticorpos do reagente ao se ligarem a um composto selecionam esse composto especificamente. Para esse feito, o anticorpo se liga na fase estacionaria e o lisado que carrega o antígeno passa. Essa coluna cromatográfica é lavada em seguida, e os componentes não ligados são eliminados. Dentre as cromatografias a de afinidade é a que tem o mais alto poder de purificação. (LENZ, 2004).

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Efetuada pela primeira vez em 1971, esse teste é considerado de alta especificidade em diagnóstico humano ou veterinário. Consistindo na imobilização do antígeno ou anticorpo, quando já está na fase sólida e adicionando outro componente ligado a uma enzima que pode ser antígeno ou imunoglobina. (STRECK *et al*, 2007).

Essa técnica é de alta confiabilidade e utiliza baixas quantidades de soros, e possibilita o processamento de muitas amostras simultaneamente. É de fácil acesso para uso em campo e consiste no antígeno ser carregado na superfície da amostra por um anticorpo. A detecção é por reação enzimática, o que torna possível detectar quantidades pequenas de anticorpos. (LENZ, 2004).

Uma doença em destaque detectada por esse exame, é a doença de chagas, sendo que a técnica de ELISA, detecta anticorpos que agem contra o parasita com a presença de um anticorpo secundário, (anti-imunoglobulina humana produzido em animais de laboratório) ligados a enzimas. Unidos a substratos com alta especificidade, geram substâncias coloridas, que pode ser facilmente detectado por espectrofotometria. (ALMEIDA; SANTILIANO, 2012).

Em 1978 em Paracambi, RJ Brasil, através de testes científicos para confirmação do surto de peste suína africana ocorrido em 1970, foi informado que os animais se contaminaram pelos restos alimentares emergentes de aviões vindos de Portugal e Espanha, lugares onde a doença já havia se alastrado. Para obtenção do diagnóstico, o Departamento de Virologia do Instituto de Microbiologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, utilizou técnicas de diagnóstico, como a imunofluorescência em cortes de tecido (FASTS) imunofluorescência em cultivo celular (FATCC), imuno-eletrosmoforese (IEOP) e imunofluorescência indireta (IIF). Com o resultado 0,35% das amostras foram confirmadas através do método HAD, 0,32% positivadas através do FATS, 0,008% com análise FATCC, 5,74% pela IEOP e por fim 0,19% com o método IIF. Com o auxílio da vigilância sanitária e o diagnóstico rápido e preciso através de técnicas especializadas, obteve-se o controle da doença. (TOKARNIA *et al*, 2004).

Lacerda et al. (2010) relatam em seu artigo sobre o diagnóstico da raiva bovina no Estado de Mato Grosso, ocorrido entre 2007 e 2009, uma patologia originada pelo vírus generalizado *Lyssavírus*. Na nação brasileira essa doença é

transmitida pela espécie de morcego hematófago *Desmodus rotundus* e descrita no Código Sanitário para os animais terrestres da OIE. A raiva apresenta uma taxa de mortalidade de 100% para os animais e os efeitos negativos no organismo afetados pela raiva, geralmente, envolvem o acometimento do Sistema Nervoso Central. Para que sejam identificados os efeitos dessa doença, são necessários aparelhos como microscópicos, fazendo com que o diagnóstico preciso possa ser realizado somente em ambiente laboratorial. Dentre as diversas técnicas de imunodiagnóstico, a mais utilizada para esses casos é imunofluorescência direta (IFD), por ser uma técnica rápida e com alta especificidade (LACERDA *et al*, 2010).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão apresentou-se alguns métodos laboratoriais e suas interpretações, ressaltando sua importância e vincular em determinar diagnósticos de doenças precocemente. Os resultados dos testes imunológicos e a interpretação dos resultados existentes nos mesmos auxiliam nas medidas protetoras de controle humana e veterinária.

Ao serem analisados os métodos utilizados para o controle de doenças, vê-se que estes testes nem sempre são de baixo custo e de fácil acesso, além de ressaltar que muitos possuem problemas executivos. Em vista do exposto, existe uma grande necessidade de desenvolver novos testes mais sensíveis e que possibilitem resultados quantitativos e não somente qualitativos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, K. Abbul; LICHTMAN, H. Andrew; PILLAI, Shiv. **Funções e distúrbios do sistema imunológico**. 4. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2013.

ALMEIDA, Betânia R.; SANTILIANO, Fabiano. C. Levantamento de métodos de diagnóstico para doenças de chagas. *In*: ENCICLOPÉDIA Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 14, 2012. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/saude/levantamento.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2015.

LENZ, Guido. **Métodos Imunológicos**. 2004. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/biofisica/Bio10003/MIMUNO.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2015.

MADRUGA, R. Claudio; ARAUJO, R. Flavio; SOARES, O. Cleber.
Imunodiagnostico em medicina veterinária. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia 2011.** Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia ORT, 2012.

MOURA FILHO, A. Edson. 1996. **Imunologia Básica para Imunizações Modulo I: Imunologia Geral.** Disponível em:
<http://www.who.ch/programmes/pgv/gEnglish/avail/gpvcatalog/catlog1.htm>. Acesso em: 22 abr. 2015.

PARHAM, Peter. **O sistema imune.** 3. ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill Brasil, 2011.

RODRIGUES, Tatiana R.; AVANZA, Marcel F. B.; ZAPPA, Vanessa. Anemia infecciosa equina. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária.** Disponível em:
http://www.faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/1EXANQMjqkUJ MhT_2013-6-19-10-54-14.pdf . Acesso em: 16 nov. 2015.

STRECK, F. André *et al.* Tecnicas de diagnostico imunologico em suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2007.

TIZARD, R. Ian. **Imunologia veterinária.** 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

TOKARNIA, Carlos Hubinger *et al.* O surto de peste suína africana ocorrido em 1978 no município de Paracambi, Rio de Janeiro. **Pesq. Vet. Bras**, v. 24, n. 4, p. 223-238, 2004.