

REAÇÕES SOROLÓGICAS

Prof. Moysés Sadigursky

Toda vez que um indivíduo entra em contato com um antígeno que pode ser um agente microbiológico causador de doença, o sistema imune reage dentro da sua função de defesa produzindo uma resposta imune específica que pode ser manifesta através de anticorpos. A presença de anticorpos no soro de um paciente indica que ele entrou em contato com o antígeno seja através de uma imunização ou através de uma infecção. A detecção de anticorpos contra um determinado agente microbiológico pode ser de grande utilidade para orientar o diagnóstico. A todo o momento o médico está solicitando reações sorológicas para diagnóstico de doenças. Diferentes técnicas sorológicas foram desenvolvidas para uso no diagnóstico e também em pesquisas laboratoriais. Todas técnicas desenvolvidas baseiam-se em procurar tornar visível a reação antígeno-anticorpo. Porém algumas técnicas vão se tornando de uso mais comum e outras vão deixando de serem usadas. Isto ocorre porque procura-se uma técnica que seja sempre mais sensível, mais específica, mais rápida e também mais barata.

Atualmente a técnica sorológica que vem sendo mais usada é a chamada de ELISA pois usa pequena quantidade de antígeno, é sensível, tem boa especificidade, automatizada e também barata.

Dentre as técnicas sorológicas usadas tanto em diagnóstico como em pesquisa destacam-se as seguintes:

IMUNOPRECIPITAÇÃO EM GEL (TÉCNICA DE OUCHTERLONY)

Nesta técnica o antígeno e o anticorpo migram na direção um do outro no gel e uma linha de precipitação é formada onde os dois reagentes se encontram.

Múltiplas linhas de precipitação serão formadas se o antígeno e o anticorpo contem diversas espécies moleculares.

Esta técnica tem a vantagem particular de diversos antígenos e anticorpos poderem ser comparados em torno de um simples poço de anticorpo ou antígeno.

IMUNOELETROFORESE

Nos estudos com difusão em gel, quando se trabalha com mistura de antígenos é muito difícil a identificação de todas as bandas. Para contornar esta dificuldade foi desenvolvida uma técnica chamada de **ANALISE IMUNOELETROFORETICA** que introduz um outro parâmetro, ou seja, a mobilidade eletroforética dos diferentes antígenos.

O princípio é muito simples. A mistura de antígeno a ser estudada, (por exemplo soro humano), é colocada em um pequeno poço de uma lâmina de microscópio na qual se colocou uma camada de gel de agar com 2 a 3mm de espessura. A lâmina é colocada em uma câmara apropriada e as extremidades são conectadas a reservatórios com tampão pH 8,2 através de tiras de papel de filtro. Eletrodos são conectados a uma fonte de corrente contínua. Uma corrente de 8mA por lâmina é passada durante 2 horas. Completada a separação, uma canaleta é feita no sentido horizontal da lâmina e nesta se coloca o anti-soro. Ex.: anti-soro humano total. Deixa-se a lâmina em uma câmara úmida para que haja uma dupla difusão. Cada proteína do antígeno, forma um arco de precipitação com o seu anticorpo correspondente.

HEMAGLUTINAÇÃO PASSIVA

A Hemaglutinação Passiva é um dos métodos mais simples para se quantificar anticorpos e antígenos. É também um dos métodos imunológicos mais largamente utilizado no diagnóstico de grande número de doenças, sejam causadas por bactérias, vírus, protozoários ou mesmo metazoários. A sua execução é fácil e não há necessidade de se utilizar aparelhos especiais.

Utiliza-se hemácias de carneiro ou hemácias humanas (0Rh-) como elemento revelador que permita visualizar a reação antígeno anticorpo.

É sabido que antígenos virais e polissacarídeos se fixam facilmente à superfície das hemácias. Os antígenos de natureza protéica se fixam também à superfície das hemácias porém em menor quantidade. Para facilitar a fixação dos antígenos protéicos a superfície das hemácias faz-se o tratamento prévio das hemácias com Ácido Tânico. Este tratamento além de facilitar a fixação do antígeno, torna as hemácias mais susceptíveis de aglutinar.

ELISA ou Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay é o método imunológico atualmente mais usado tanto na prática médica como também em pesquisa. O uso gradativamente generalizado deste método se deve:

Alta Sensibilidade, Especificidade, Versatilidade, Fácil execução, Reagentes de fácil obtenção, Uso de pequenas quantidades de reagentes (ex. antígeno), Uso opcional de equipamentos (Espectrofotometro), Baixo custo

Como todo método imunológico tem por objetivo tornar visível ou possível de leitura a reação do antígeno com o anticorpo. Na reação básica o antígeno é fixado a um suporte sólido onde o anticorpo é adicionado para reagir e em seguida um anticorpo secundário ligado a uma enzima é adicionado. Após as lavagens necessárias a reação positiva é visualizada com a adição do substrato da enzima e uma substância cromógena.

O método ELISA pode ser direto ou de captura. Estes tipos podem ser ainda preparados para fornecer resultados de tipo qualitativo, semi quantitativo e quantitativo.

Substitui com grande vantagem o método de Radio-imuno-ensaio.

É usado para diagnóstico de doenças como também para dosagem de antígeno, anticorpo e outras substâncias que ocorrem em diminutas concentrações como é o caso das citocinas.

IMUNOFLUORESCÊNCIA

A imunofluorescência é uma técnica sorológica muito usada devido a sua especificidade e alta sensibilidade.

É muito usada para o diagnóstico de doenças parasitárias ou bacterianas e também virais. Sempre quando é possível ter o agente etiológico fixado em uma lâmina. É usada também para identificar antígeno ou mesmo parasitos em tecidos.

Nesta técnica para se visualizar a reação antígeno-anticorpo usa-se um reagente que é uma anti-gama globulina fluoresceinada. Desta forma o complexo quando exposto a uma luz ultravioleta se torna fluorescente e deste modo visível. A imunofluorescência pode ser do tipo direta quando se procura um antígeno específico com um anticorpo fluoresceinado específico para aquele antígeno ou indireta quando usa-se o soro do paciente para reagir com o antígeno e depois usa-se um conjugado fluoresceinado ou seja uma antigamaglobulina fluoresceinada (ex. Anti IgG humana fluoresceinada)