

2

**CONGRESSO INTERNACIONAL DE
ENFERMAGEM VETERINÁRIA**

| A Fisioterapia em Animais de Companhia |

14_16

Out/2011

Viana do Castelo

ciev.ipvc.pt

ciev@esa.ipvc.pt



Papers in conference proceedings



Métodos imunológicos e suas aplicações em diagnóstico. Imunofluorescência

Capela I¹, Almeida D¹, Moreira R¹, Garcia C¹, Cruz R¹, Vala H^{1,2}

¹Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viseu. Viseu, Portugal

²Centro de Estudos em Educação, Tecnologias e Saúde, Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu. Viseu

INTRODUÇÃO

Os testes laboratoriais imunológicos podem fornecer informações importantes para o diagnóstico e cuidado clínico de pacientes, sendo de extrema importância no diagnóstico de doenças relacionadas com o envolvimento directo do sistema imune, como para doenças de etiologia independente do sistema imunológico. Os testes estabelecidos e clássicos detectam a presença de anticorpos contra parasitas, fungos, bactérias, vírus, indicando a presença de uma resposta imune contra o agente. Testes mais modernos e sensíveis podem detectar a presença de antígenos destes agentes, indicando directamente a sua presença no hospedeiro. Os testes imunológicos podem, ainda, ser utilizados para a detecção de hormonas ou outras substâncias (Hames, 1999).

A imunofluorescência combina técnicas histológicas, imunológicas e bioquímicas com o objectivo de identificar componentes celulares, denominados antígenos (Ag), em células e tecidos através da reacção com anticorpos específicos.

A técnica utiliza anticorpos (Ac) que se ligam covalentemente a moléculas relevadoras denominadas fluorocromos, permitindo a visualização dos complexos antígeno-anticorpo, sem que as suas propriedades imunitárias se modifiquem (Meira, 2010).

MÉTODOS

Imunofluorescência	Detecta	Conjugado + Fluorocromo
Directa	AG	AC
Indirecta	AC	AG
	AG	AC

MÉTODO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRECTA

Para a pesquisa de anticorpos, efectua-se a incubação da célula/tecido em que se pretende pesquisar o Ag com o Ac específico purificado marcado com o flurocromo, gerando a formação do imunocomplexo, realizando-se, de seguida, a lavagem, para retirar os imunocomplexos não ligados. Por fim, faz se a observação ao microscópio.

MÉTODO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRECTA

Para a pesquisa de anticorpos, efectua-se a colocação de antígenos padronizados na placa de vidro, posteriormente a diluição e adição do soro do paciente à placa de vidro. Forma-se a incubação do complexo antígeno-anticorpo, realiza se a lavagem para a retirada dos anticorpos não ligados. De seguida, ocorre a incubação com o conjugado fluorescente. (Adaptado de Uecker *et al*, 2007)

Para a pesquisa de antígenos, procede-se à incubação da célula/tecido em que se pretende pesquisar o Ag com o Ac específico, ocorrendo a formação do imunocomplexo, depois realiza-se a lavagem para a remoção dos anticorpos não ligados.

Posteriormente, efectua-se a incubação da preparação com o conjugado anti-imonoglobulina-fluorocromo, produzido noutra espécie de animal. Por último, observa-se ao microscópio. (Adaptado de Uecker *et al*, 2007)

DISCUSSÃO

Estes métodos são largamente utilizados por profissionais em estudos e as suas principais utilizações em Medicina Veterinária prendem – se com o diagnóstico de várias doenças e parasitoses, tais como: Leishmaniose, Criptosporidiose, Estrongiloidose, Giardiose, Toxoplasmose, Babesiose, Erlichiose, Neosporose, Raiva e Campilobacteriose Genital Bovina e fenotipagem de células tumorais e identificação do Streptococcus do grupo A.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estas técnicas realizam-se preferencialmente com tecido congelado para diminuir os fenómenos de autofluorescência e o bloqueio de alguns determinantes antigénicos. A alta especificidade e sensibilidades são vantagens comuns a ambos os métodos. Por outro lado, a subjetividade de leitura ao microscópio de

fluorescência pode ser uma desvantagem assim como a queda de actividade das moléculas fluorescentes ao tempo, não permitindo a conservação das lâminas em arquivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hames BD, (1999). Immunodiagnosics, A Practical Approach, edited by Raymond Edwards, Oxford University Press, New York: 1-3

Meira P (2010). Imunohistoquímica. <http://www.slideshare.net/labimuno/imunohistoquimica>, consultado em 15/04/2011.

Uecker M, Copetti C, Poleze L, Flores V (2007). Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_39_01/rbac_39_1_03.pdf, consultado em 02/05/2011.