

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ
FACULDADE DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
CURSO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLOGIA

MÉTODOS LABORATORIAIS APLICADOS AO DIAGNÓSTICO DE LUPUS
Uma revisão da literatura

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências da Universidade Tuiuti do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista.

Daniele José de Cerqueira Lopes
Fábio Bispo da Silva

Orientador: *Professor Sandro Germano*

Brasília – DF
2009

AGRADECIMENTOS:

Este trabalho é fruto de dedicação à ciência e respeito à presença de Deus, fonte de sabedoria, glória e poder.

A todos os nossos familiares que nos incentivam e que nos apóiam em momentos difíceis e, sobretudo quando as dificuldades parecem minar as nossas forças.

Aos professores, orientadores e funcionários pela atenção e disponibilidade nas horas em que foram solicitados e prontamente nos atenderam.

Aos nossos colegas de curso, com quem dividimos o cansaço e o entusiasmo durante todo este período, fazendo com que tornar-se algo mais que um momento de aprendizado, também uma construção de amizade.

RESUMO

O Lúpus é uma doença crônica de etiologia desconhecida e de prognóstico variável. As manifestações clínicas podem variar de inflamações a lesões de pele e órgãos, podendo ocorrer danos locais ou sistêmicos. As formas clínicas encontradas são o LED e o LES. O curso desta patogenia depende tanto de fatores inerentes ao paciente como também da existência de doença de base. A pesquisa e detecção de auto-anticorpos tornam-se necessária e auxilia no diagnóstico preciso, possibilitando melhor acompanhamento terapêutico ao paciente. O lúpus em diversas situações apresenta bom prognóstico clínico, em outros casos requer tratamento mais complexo.

Palavras-chave;

LES : Lupus Eritematoso Sistêmico

LED: Lupus Eritematoso Difuso

FAN: Fatores Anti-Nucleares e Citoplasmáticos

ELISA: Enzima Imunoensaio

SSA-Ro: Anticorpo anti proteína ribossômica R

SSB-La: Anticorpo anti proteína ribossômica L

IFI: Imunofluorescência Indireta

Sm/RNP: Anticorpos anti-nucleoproteína ribossômica

ABSTRACT

The Lupus is a chronic disease of unknown etiology and variable prognosis. The clinical manifestations vary from the inflammation of skin lesions and organs, may occur local or systemic. The clinical forms are found and the LED SLE. The pathogenesis of this course depends on factors related to the patient but also the existence of the basic disease. The search and detection of autoantibodies become necessary and assists in accurate diagnosis, allowing better monitoring of patient therapy. The lupus in various clinical situations presents a good prognosis, in other cases require more complex treatment.

Palavras-chave;

LES : Lupus Eritematoso Sistêmico

LED: Lupus Eritematoso Difuso

FAN: Fatores Anti-Nucleares e Citoplasmáticos

ELISA: Enzima Imunoensaio

SSA-Ro: Anticorpo anti proteína ribossômica R

SSB-La: Anticorpo anti proteína ribossômica L

IFI: Imunofluorescência Indireta

Sm/RNP: Anticorpos anti-nucleoproteína ribossômica

INTRODUÇÃO

Dentre as primeiras técnicas imunológicas aplicadas á prática médica, estão os testes de classificação dos grupos sanguíneos aplicados nas transfusões de sangue, outrora mal sucedidas, e muitas vezes complicando a saúde ou inviabilizando a cura do paciente (Crowell e cols, 1964).

A Imunologia é uma ciência centenária que vem se desenvolvendo em conjunto com outras áreas afins, sendo solicitada cada vez mais na clínica médica assume importância fundamental no campo do diagnóstico clínico e laboratorial. Um dos destaques para o desenvolvimento da imunologia está a aplicação de novas tecnologias em obtenção e aperfeiçoamento de métodos laboratoriais de diagnóstico (Roberto Moura, 2006; John B. Henry, 2004).

Os métodos existentes variam desde os mais simples, utilizados no cotidiano do laboratório, até os mais sofisticados, constantemente apresentados aos laboratórios clínicos. O diagnóstico do lúpus rege-se pela avaliação médica e pelos dados de exames laboratoriais do paciente, sendo então associados á suspeita clínica. A confirmação dos dados clínicos é reforçada após correlação com os resultados analíticos dos os testes laboratoriais empregados, visando um diagnóstico mais preciso e consistente (Samuel Kopersztych, 2009).

A importância da relação clínica-laboratório possibilita que a imunologia contribua de forma relevante com a prática médica, oferecendo aos diversos campos da medicina um aporte para evidencição de patogenia que é o diagnóstico laboratorial (John B. Henry, 2004). As diversas doenças auto-imunes existentes e relacionadas ao lúpus representam grandes desafios à medicina,

onde o emprego de novas tecnologias será cada vez mais requisitado, objetivando o diagnóstico de doenças (Robins e cols, 1989; Richard Ravel, 1997).

Nos dias atuais é possível o transplante de órgãos, quando estes já estão com o funcionamento deficiente ou mesmo inoperantes. Algumas doenças manifestadamente em associação ao lúpus já são tratadas com transplante de medula óssea, que é a matriz celular produtora de todas as linhagens celulares do sangue (Arthur C. Guyton, 1992; Bone marrow, 2008; Pedro Saraiva, 2008).

O lúpus eritematoso, em todas as suas formas, caracteriza-se clinicamente pela forma crônica pré-valente, podendo apresentar períodos recidivantes. A causa etiológica é indefinida, co-existindo, entretanto, algumas teorias que se propõem a explicar sua origem baseando-se em alguns fatores. Umás definem como determinantes os fatores genéticos e ou adquiridas idiopaticamente. Outras se referem á interferência do meio externo através do sol, do contato direto com substâncias químicas, com venenos, medicamentos e partículas ionizantes (G. Ballone, 2007; Keiserman e cols, 2008).

REFERENCIAL TEÓRICO

As diversas formas de apresentação do lúpus estão relacionadas ás desordens imunológicas do sistema imunitário. Estas patogenias surgem quando anticorpos atacam estruturas do próprio organismo, caracterizando reações auto-imunes, podendo acarretar lesões de células, órgãos e sistemas, conforme a região acometida. Para se desencadear a doença é preciso que fatores externos, como infecções virais e bacterianas, ocorram, além de exposição a agentes químicos e radiações ionizantes sobre o organismo. O contato destes fatores com o sistema imunitário de um

indivíduo que está com gens modificado pode induzir a produção de auto-anticorpos, contra seus próprios constituintes. As manifestações clínicas são variáveis, apresentando sinais e sintomas distintos de acordo com os órgãos afetados e a intensidade das reações auto-imunes desencadeadas. Na pele e em mucosas, o LES apresenta-se como lesões em “asa de borboletas” que é uma inflamação mais freqüente em bochechas e dorso do nariz, podendo atingir outras regiões do corpo. Muitos pacientes com LES têm sensibilidade ao sol e a luz intensa, foto-sensibilidade, ou ainda podem ser localizadas e mais profundas, caracterizando o LED (Keiserman e cols, 2008).

No aparelho locomotor o lúpus pode manifestar-se como tendinite que tende a ser uma forma mais branda, onde os sintomas de dores são aliviados com uso de corticóides. No acometimento dos rins, em sua forma mais branda, é possível desenvolver glomérulo nefrite lúpica, mesmo acompanhado de lesões responde bem ao tratamento. Nesta patogenia a presença de leucócitos, hemácias, proteínas e aumento de creatinina no sangue, tende-se a desenvolver a forma mais severa da doença que, mesmo clinicamente importante, responde bem ao tratamento (Osvaldo Luiz e cols, 1989; Terezinha Lorenzi, 2003; Bone Marrow, 2008).

As raízes nervosas periféricas e o sistema nervoso central podem ser acometidos pelo lúpus, na forma de LES, nestas situações, as manifestações mais freqüentes, além de dores de cabeça, são os distúrbios de comportamento, as convulsões, os movimentos involuntários e descoordenados em membros superiores e inferiores, caracterizando o neuro-lúpus, que sempre deve ser diferenciado de infecções generalizadas (Artur Duarte, 1989; G. Ballone, 2008).

O coração e vasos sanguíneos podem ser afetados pelo LES. Os distúrbios cardiovasculares vão desde pequenas hemorragias localizadas até danos mais extensos, como micro-infartos e cardiopatias crônicas acompanhadas de ou não de complicações coronarianas. As entidades cardio-patológicas do lúpus devem ser diferenciadas de endocardites bacterianas, formas comuns e importantes de patogenia cardíaca por lúpus em casos paralelos á infecções generalizadas. A ocorrência de lúpus cardiovascular surge com mais freqüência devido a infecções bacterianas mal tratadas indevidamente (Ronald Elis, 1991; Daniella Pessoni, 2008).

Na síndrome lúpica obstétrica em presença dos anticorpos anticoagulante lúpico e anti-fosfolipídios, o risco de aborto fetal é alto. O encontro de anticorpos anti-cardiolipinas no 1º ou 2º trimestre de gestação representa risco real e eminente de abortamento fetal, sendo uma condição clínica mais importante do que a endocardite bacteriana nestas pacientes (Isselbacher e cols, 1995; Tony Madureira, 2008).

A exacerbação do lúpus na gravidez requer vigilância e terapêutica mais apurada. Nestas pacientes a presença de nefrite, hipertensão arterial e diabetes são fatores diretamente relacionados aos riscos da gravidez e ao prognóstico clínico do recém nascido. As complicações do lúpus podem ocorrer após o parto ou cesariano. Neste período o controle clínico e laboratorial da doença deve ser constante, através da avaliação dos sintomas e sinais clínicos, além da observância nos exames laboratoriais executados, como o hemograma completo, os complementos C3 e C4 e os anticorpos relacionados: Sm/RNP, anti-DNA e outros (Wagner figueiredo, 1996; Maria C. Abreu, 2008; Tony Madureira, 2008).

A incidência do lúpus é maior em mulheres que nos homens, principalmente entre os 20 e os 40 anos, chegando a proporção de 1/10. A raça negra é a mais vulnerável em ambos os sexos. Na raça branca, compreendendo os asiáticos e europeus é comum ocorrer dermatose inflamatória na pele. Esta manifestação pode estender-se à boca, acompanhadas ou não de lesões, cujo quadro clínico é típico de lúpus idiomático, de etiologia indefinida. O tratamento baseia-se em ingestão de vitamina A e D e quando necessário o uso de tranqüilizantes menores (lexotan) e anti-inflamatórios (corticóides). O impacto sócio-econômico em pacientes com lúpus é agravado pela diminuição na produtividade do operário em seu trabalho, aumentando os custos das empresas ou serviços públicos em geral (Rothschild e cols, 1989; Fernanda Surita, 2007; gestão 1993-7; Tony Madureira, 2008).

O diagnóstico do lúpus é primeiramente clínico, em seguida devem ser pesquisados os anticorpos relacionados. O exame clínico do paciente em geral é feito por um clínico ou um reumatologista, levando-se em consideração a presença de sinais em formas de manchas na pele ou em articulações, erupções cutâneas e úlceras orais ou nasais. Os sintomas típicos são as dores nas regiões afetadas, sem outra suspeita clínica evidente. A presença de hemácias, leucócitos e proteínas na urina, sem uma doença de base deve ser suspeita de nefrite lúpica. Os exames laboratoriais, auxiliares e específicos, para o diagnóstico devem ser escolhidos de acordo com a clínica do paciente, acrescentando-se o teste de FAN pela imunofluorescência indireta, para pesquisa de auto-anticorpos nucleares e citoplasmáticos, ou ainda a dosagem isolada de auto anticorpos SSA, SSB, SmRNP, anti-DNA e outros, de acordo

com a conduta médica aplicável (Wagner figueiredo, 1996; Boris A. Cruz, 2008).

A técnica da Biomerieux R para montagem de um teste de imunofluorescência para pesquisa de FAN é a seguinte:

PROCEDIMENTO TÉCNICO

FAN (FATOR ANTI-NÚCLEO E CITOPLASMA)

1. Amostra

1.1 Tipo

Soro.

1.2 Volumes mínimos

1,0 mL

1.3 Rejeição

Amostras hemolizadas, lipêmicas ou turvas.

1.4 Acondicionamento e conservação pré-analítica da amostra no próprio tubo de amostra á temperatura ambiente.

2. Princípio do Método

A imunofluorescência indireta é utilizada para demonstrar anticorpos contra estruturas celulares em soro de pacientes com doença auto-imune. O soro contendo anticorpos são incubados em laminais com antígenos de células HEP 2 (laringe humana) previamente fixados e em seguida revelados com anti-imunoglobulina humana marcada com fluoresceína..

3. Equipamentos e Instrumentos Alternativos

3.1 Equipamentos

- Microscópio de fluorescência;

3.2 Manutenções

Diárias: Limpeza externa e das objetivas com gaze e álcool a 70%.

3.4 Instrumentos alternativos

- Pipetas automáticas 25µL;
- Pipetas automáticas de 1000µL;
- Ponteiras descartáveis 10µL - 100µL;
- Ponteiras descartáveis 100µL - 1000µL;
- Tubos de ensaio de 5mL;
- Cronômetro;
- Pissêta.

4. Reagentes, Kits,

Instrução / Reagentes

Antígenos de células HEP-2 - o antígeno é uma extração protéica de tumor meta-plásico de laringe fixada em lamina para imunofluorescência.

4.2 Preparo

Os reagentes são prontos para uso.

5. Técnica

5.1 Antes de iniciar a execução dos testes, retirar todos os reagentes em refrigeração e aguardar até que atinjam a temperatura ambiente. As lâminas para preparação já vêm sensibilizadas com antígenos HEP-2

(células de tumor cancerígeno de laringe);

5.2 Diluir as amostras em 1:40, usando 25µL do soro e 975µL de tampão PBS;

5.3 Aplicar 25µL nos orifícios da lamina contendo substrato HEP 2;

5.4 Incubar em câmara húmida por 30 minutos em temperatura ambiente;

5.5 Remover o excesso líquido dos poços, escorrendo com uma pissêta levemente PBS sobre a lamina;

5.6 Proceder duas lavagens, imergindo a lamina em PBS por 5 minutos, e em seguida mais 5 minutos em outro recipiente com outra alíquota de PBS;

5.7 Secar cuidadosamente a lamina em papel absorvente, fornecido no kit. O substrato deve permanecer úmido;

5.8 Depositar 1 gota de anti-imunoglobulina IgG em cada poço. Transferir a lamina para câmara húmida e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos. Lavar e secar, escorrendo em papel absorvente;

5.9 Depositar algumas gotas de tampão glicerinado sobre cada poço da lâmina, cobrir com lamínula, evitando a formação de bolhas de ar.

5.10 Examinar as amostras testadas em microscópio de fluorescência e objetiva 40X, priorizando a zona entre o centro e a periferia do poço. Selecionar os campos em que houver intensidade e uniformidade de fluorescência.

5.11 Classificar os padrões antinucleares. Vide interpretação técnica. Para amostras reagentes, fazer diluições até se obter o maior título que se apresenta não reagente

5.12 Para amostras reagentes ou positivas, fazer diluições até se obter o maior título não reagente ou negativo.

5. Sensibilidade

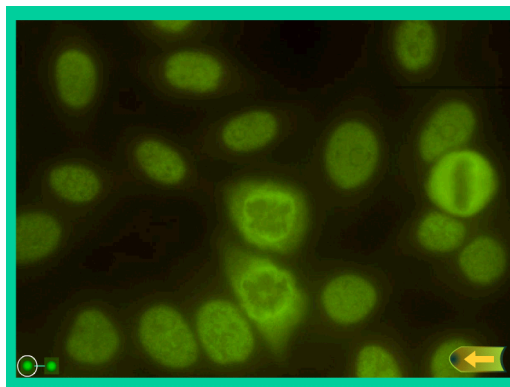
De 97 a 99%.

6. Pontos críticos

Os procedimentos de diluição das amostras e do tampão PBS, temperatura de armazenagem da lamina de reação -12°C e demais reativos entre 2 e 8°C , estabilidade do conjugado enzimático e controles negativo e positivo, intervalo de tempo de incubação e lavagem da lamina de reação, manter a sala e o microscópio de imunofluorescência livres de poeiras e contaminantes, ajustar o voltímetro do microscópio em 100 Volts, utilizar apenas glicerina tamponada para cobrir a lamínula, verificar constantemente a estabilidade da lâmpada fluorescente através das análises contínuas dos controles.

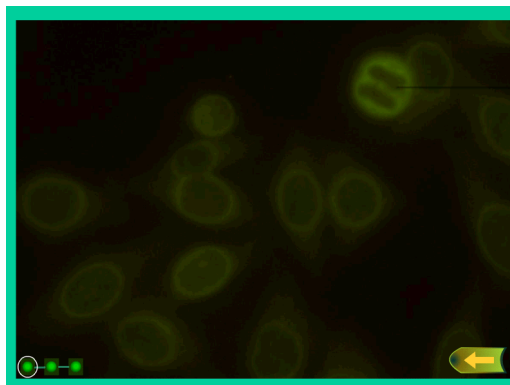
7. Interpretação Técnica

7.1 Padrão nuclear Homogêneo – Fluorescência homogenia em todo o núcleo na interfase e intensa na mitose. Sugere-se presença de anticorpos anti DNA, relacionados a lúpus.



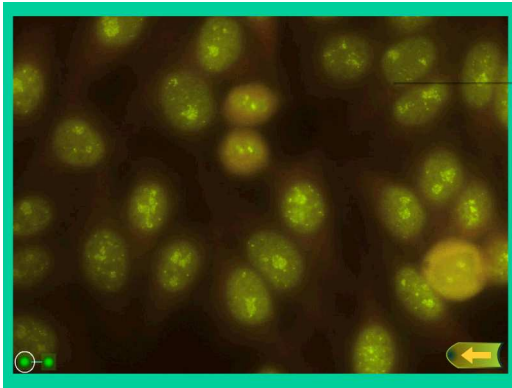
Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003.

11.2 Padrão periférico – Marcação na periferia do núcleo, com maior intensidade no perímetro interior e homogenia nas demais regiões do núcleo. Sugere-se presença de anticorpos anti Sm/RNP e anti DNA, relacionados a lúpus

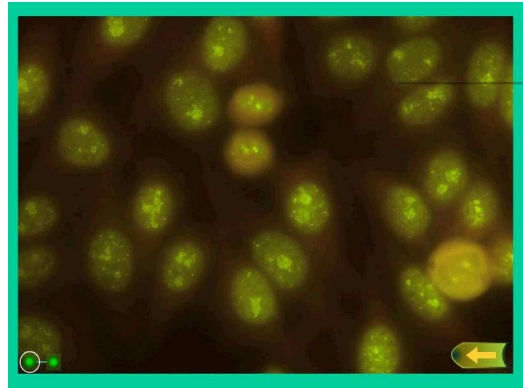


Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003

11.3 Padrão mosqueado – marcação fluorescente em forma de granulado grosso. Os grânulos são de tamanhos variados, esta característica está relacionada ao antígeno que reagir. Sugere-se presença de anticorpos anti Sm/RNP, relacionados a lúpus



Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003

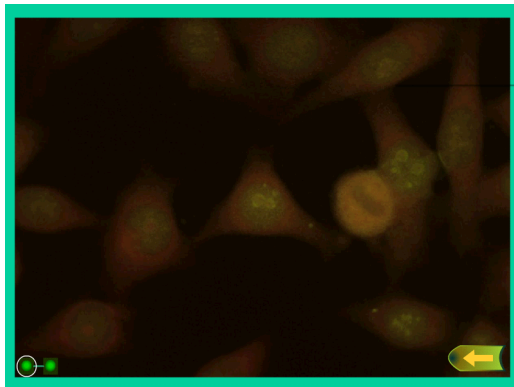


Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003

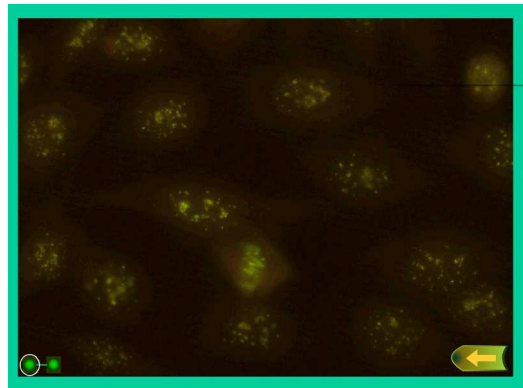
11.4 Padrão nucleolar:

11.4.1 Nucleolar de padrão homogêneo, com leve marcação no restante do núcleo. Sugere-se presença de anticorpos Sm/RNP, anti DNA e SSA, sendo os dois primeiros relacionados a lúpus.

11.5 Padrão centromérico – ponteados discretos nas células na interfase. Os pontos aparecem alinhados com os cromossomos nas células em metáfase sugere-se anticorpos Sm/RNP, anti DNA, SSB e scl 70.



Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003



Fonte: 2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003

11.4.2 Nucleolar de padrão mosqueado, com marcação mosqueada dos nucléolos nas células na interfase e marcação exata nas regiões organizadoras do núcleo. Sugere-se presença de anticorpos anti Sm/RNP.

Obs: A presença de auto-anticorpos contra antígenos nucleares, citoplasmáticos, centromérico e de aparelho mitótico são analisados através da comparação com os controles positivos e negativos fornecidos no kit pelos fabricantes.

- As amostras positivas devem ser tituladas, define-se o título com a maior diluição que apresentar resultado positivo ou reagente.

- Quando não se observar nenhuma das marcações específicas descritas, o resultado é negativo para auto-anticorpos.

12. Valores de Referência e Limites

Não Reagente (FAN negativo)

13. Controle de Qualidade

Controle de Qualidade Interno para Procedimentos Manuais.

14. Interpretação do Resultado

Este método é empregado na triagem de pacientes com suspeita de doença auto imune. Deve ser correlacionado com as dosagens dos auto-anticorpos contra antígenos: SSA, SSB, SmRNP, SCL-70, JO1, DNA nativo ou de dupla hélice, Centrômero, Mitocôndria e outras estruturas celulares.

15. Interferências

Amostras fortemente hemolizadas, lipêmicas e contaminadas com material particulado.

A dosagem de auto-anticorpos por ELISA com o reagente Diasorin é a seguinte:

PROCEDIMENTO TÉCNICO DE UM ENSAIO Sm/RNP POR ELISA

1. Amostra

1.1 Tipo

Soro.

1.2 Volume mínimo da amostra

1,0 mL

1.3 Rejeição

Amostras hemolizadas, lipêmicas ou turvas.

2. Princípio do Método

O imunoensaio enzimático em fase sólida (ELISA) é utilizado para pesquisar anticorpos IgG anti Sm/RNP no soro de pacientes com doenças auto-imune. A reação ocorre nos poços da micro placa onde os anticorpos presentes nas amostras, calibradores e/ou controles, ligam-se aos antígenos (Ag) Sm/RNP aderidos à fase sólida. Após a incubação os anticorpos não aderidos são removidos no processo de lavagem. Ao adicionar o conjugado (anti-IgG humano mais peroxidase) este se ligará as IgG específicas remanescentes. Em seguida, e após a lavagem, é adicionado o cromógeno (substrato da peroxidase) que é o revelador da reação. A finalização ocorre com a determinação do nível de anticorpos por espectrofotometria.

3. Equipamentos e Instrumentos Alternativos

3.1 Equipamentos

Lavadora para Elisa: ELx 50 da BIO-TEK.

Leitora para Elisa: ELx 800 da BIO TEK.

3.2 Instrumentos complementares

- Ponteiras descartáveis 10µL - 100 µL;
- Pipeta automática 100µL;
- Pipeta automática 50µL;
- Tubos de ensaio de 5 mL;

- Cronômetro.

3.3 Reagentes, Calibradores e Controles

3.4 Instrução de preparo

São prontos para uso. Antes do manuseio os reagentes devem ser levemente agitados por movimentos giratórios a fim de deslocar bolhas e homogeneizar os componentes. Devem ser mantidos em temperatura de 2 a 8°C. Depois de retirados da geladeira, aguardar 10 minutos até atingir a temperatura ambiente.

3.5 Stips sensibilizadas com antígenos Sm/RNP extraído de timo de vitelo.

3.6 Conjugados enzimáticos – Anti IgG humana conjugada com peroxidase, tampão PBS e corante verde inerte.

3.7 Calibradores 1,2,3 e 4, concentrações respectivas de 3.125 U/mL, 12.5 U/mL, 50.0 U/mL e 100.0 U/mL.

3.8 Cut-off = 4,0 U/ML.

3.9 Controle negativo < 4,0U/mL.

3.10 Controles positivos: maior que (>) 4,0U/mL.

3.11 Solução stop – Ácido sulfúrico a 1N.

3.12 Cromógeno 15ml – substrato TMB composto de peróxido de hidrogênio e 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina.

3.13 Preparo

3.14 Soluções: Diluente de amostra - diluente concentrado, tamponado em PBS e com conservante azida sódica. Deve-se diluir o frasco de diluente de amostra de 20mL em 100mL de água destilada ou deionizada.

3.15 Tampões de lavagem, ou diluente de linha ou Wash buffer – Tampão concentrado de PBS e com conservante azida sódica. Deve-se diluir o frasco wash buffer 50mL em 1000mL de água destilada ou deionizada.

4. Técnica

4.1 Diluir as amostras 1:101, em tubo de hemólise (10µL de soro do paciente mais 1000µL de diluente de amostras);

4.2 Em stips nas placas com numeração alfa numérica (de 12 colunas de A-H) seguir, rotineiramente, as posições A1, B1, C1, D1, E1, F1 e G1 para o branco, calibradores e controles, nesta ordem, e a partir da posição H, utilizar amostras, ordenadas de cima para baixo e da esquerda para direita.

4.3 Pipetar nos poços das stips, 100µL de diluente de amostra, na cavidade selecionada para o branco, e adicionar sucessivamente 100µL dos calibradores 1, 2, 3 e 4, dos controles negativo e positivo e das amostras diluídas, nas respectivas cavidades para cada alíquota mencionada. Deixar em repouso por 35 minutos e ao abrigo da luz;

4.4 Realizar 3 lavagens sucessivas, automaticamente;

4.5 Adicionar 100 μ L do conjugado enzimático em todas as cavidades utilizadas da(s) stips. Deixar em repouso por 35 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz;

4.6 Realizar 3 lavagens sucessivas, automaticamente;

4.7 Dispensar 100 μ L do cromógeno em todas as cavidades utilizadas. Deixar em repouso por 10 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz;

4.8 Adicionar 50 μ L de solução de parada (ácido sulfúrico);

4.9 Realizar a leitura, ler em no Maximo até 30 minutos, em fotômetro de placa utilizando filtro de 405 a 450nm;

5. Cálculo

O fotômetro de placa (Leitora para placa) avalia a absorbância em todas as cavidades e as converte em U/mL (unidade internacional) através de uma curva de calibração semi-logarítmica onde as concentrações dos calibradores estão nas ordenadas e as concentrações dos controles e amostras em abscissas.

6. Sensibilidade

Em estudo dirigido pelo fabricante foi constatado que 95% de um grupo de pessoas com anticorpos Sm/RNP, confirmado por imunofluorescência, apresentaram resultado reagente.

7. Pontos críticos

- Preparação das soluções diluentes;
- Diluição das amostras;

- Não respeitar as posições estabelecidas no equipamento para branco, calibradores, controles e amostras;
- Executar a leitura das stips fora do tempo determinado.

8. Interpretação Técnica

Resultados inferiores a 4,0 U/mL são considerados negativos, e superiores a 4,0 U/mL são positivos. Para resultados fracamente positivos ou intermediários, será repetido o teste em outra corrida, persistindo o resultado liberar o mesmo.

9. Valores de Referência

Resultados não reagentes (negativos)
Inferior a 4,0 U/mL.
Reagentes (positivos)
Maiores ou iguais a 4,0 U/mL.

10. Interpretação do Resultado

A presença desses auto-anticorpos está relacionada com doenças auto-imunes e podem ser correlacionados com outros auto-anticorpos.

11. Interferências

Soro hemolizado, amostras lipêmicas, presença de partículas contaminantes e reagentes com perda estabilidade.

DISCUSSÃO

Para o diagnóstico do lúpus, em quaisquer de suas formas, analisa-se o conjunto de informações clínicas e laboratoriais. A anamnese do paciente é de importância relevante, pois a origem da doença pode estar relacionada a fatores genéticos, observados em indivíduos da mesma árvore genealógica, pois os achados clínicos e laboratoriais podem ser

observados em outros membros familiares (Lopes e cols, 1990; Nader Bonciane e cols, 2002).

Os exames laboratoriais, isoladamente, não completam o diagnóstico para doenças auto-imunes, especialmente o lúpus. A correlação dos testes imunológicos com os dados clínicos reforça a possibilidade de um diagnóstico convincente. Desta forma não basta detectar reações positivas para determinados anticorpos relacionados ao lúpus, pois estes mesmos podem em determinadas situações, estarem presentes em outros processos auto-imunes diferentes, que necessariamente não seja a patogenia lúpica (Lopes e cols, 1990).

Os métodos de imunofluorescência indireta e os ensaios específicos por ELISA são os mais fortes instrumentos laboratoriais para triagem de pacientes com anticorpos auto-imunes causadores de lúpus. A imunofluorescência tem a vantagem de abranger um maior número de anticorpos pesquisados, mesmo que não seja possível, por si só, identificá-los, contudo, é um veículo sinalizador da presença destes anticorpos (Biomerieux, 2009). Para complementar o resultado de uma imunofluorescência positiva é importante fazer a pesquisa individualizada dos anticorpos mais frequentes em lúpus, como o SmRNP, anti-DNA, SSA e SSB, respectivamente. A sinalização dos pontos luminosos na imunofluorescência sugere que se investigue a presença de determinados anticorpos no soro do paciente suspeito de patogenia lúpica (Reagentes Sm/RNP, Diasorin; Ivan Roitt, 1993; Jacques Walach, 2003).

CONCLUSÃO

Neste trabalho de revisão da literatura foi visto que o lúpus é uma das doenças crônicas mais abrangentes na clínica médica. O diagnóstico clínico e laboratorial é de suma importância para que se determine a patogenia do lúpus e ofereça segurança ao clínico para o devido tratamento. O paciente portador de lúpus não leva apenas os sinais e a sintomatologia em si, convive ele com o estigma social, deformações cutâneas e, por vezes, a estagnação econômica, devido à limitação pessoal em sua força de trabalho, consequência das seqüelas adquiridas com a patogenia da qual é portador. As formas de apresentação desta doença são as mais variadas possíveis, indo desde uma simples inflamação localizada de pele e articulação até acometimento sistêmico de órgãos, cujo comprometimento está relacionado a intensidade do quadro clínico desenvolvido. O sucesso no tratamento da doença está relacionado basicamente a alguns fatores, dentre os quais, o diagnóstico precoce do lúpus, a ausência de doenças de base, terapêutica eficiente e monitoramento constante. A Forma clínica do LES acomete mais as mulheres e é ainda mais relevante quando estas se encontram em períodos de gestação. Os idosos quando afetados são igualmente prejudicados, haja vista serem candidatos mais prováveis de portarem outras patogenias que potencializaram os efeitos da doença. A falta de diagnóstico e o consequente acompanhamento do lúpus continuam sendo um dos principais que potencializam os efeitos nocivos da doença.

A triagem de pacientes através da IFI e do ELISA, pode indicar anticorpos auto-imune no sangue circulante de pessoas com lúpus. A IFI é um método de

triagem qualitativo, enquanto que o ELISA é quantitativo, os dois apresentam suas vantagens e desvantagens. A vantagem de se fazer o FAN reside na maior abrangência de pesquisa de anticorpos, pois os antígenos são representados por toda a célula, que apresentam todas estruturas possíveis de serem atacadas por anticorpos (Ivan Roitt, 1993; Richard, Ravel, 1997). O baixo custo do teste de FAN é uma ferramenta importante para a aplicação a que se destina. A desvantagem da aplicação do FAN está na impossibilidade de se identificar os anticorpos presentes na amostra, sendo uma sinalização subjetiva de um determinado anticorpo. Pela metodologia de ELISA é possível identificar anticorpos de uma amostra e obter seus valores quantitativos e isoladamente. A limitação da metodologia está no fato de que, só é possível identificar o anticorpo se este estiver sendo utilizado como reagente único e específico para um determinado ensaio.

Vários testes para diagnóstico laboratorial de lúpus já são oferecidos no mercado, alguns por métodos de ELISA e outros por biologia molecular, embora, ainda que com preços pouco acessíveis à grande parcela da população, e que ainda não são disponíveis na rede pública de saúde.

REFERÊNCIAS

- Ivan Roitt; Jonathan Brostoff; David Male; Imunologia, Ed Manole, 3ª ed, São Paulo, P 20.9, 24.2, 24.6, 24.10, 12.15-16, 21.1 e 21.11; 1993.
- Liu P I; Manual Prático de Testes Diagnósticos; Ed Guanabara; P 268, 297; 1989.
- Taq Man Food Pathogen Detection Kits Manual; Applied Biosystems; Versão 1; Janeiro 2008; P 1 – 27
- Tratado de Obstetrícia – FEBRASGO. Ed 1993-97, ed Revinter, Rio de Janeiro, P 578-92, 1997.
- Rang .P.H; Dale M.M; Ritter J.M; Moore P.K, Farmacologia, ed Elsevier, 5ª ed, Rio de Janeiro, P 838, 2004.
- Nader H. Bonciane, Biologia Celular e Molecular, Ed Revinter, 4ª ed, Rio de Janeiro, P315 2002.
- Isselbacher; Braunwald; Medicina Interna, 13ª ed, ed Mc Graw-Hill-Interamericana, Rio de Janeiro, P 304, 306-9, 319-20;1995.
- Ramos, Osvaldo Luiz; Rothschild, Hanna A.; Atualização Terapêutica, 19ª ed, Artes Médicas LTDA, São Paulo, P 117,240, 598-602, 711-4, 739; 1989.
- Robins, Patologia Estrutural e Funcional, Ed Guanabara, 4ª ed, Rio de Janeiro, P 161-8,860,947,965,302 e 1077; 1989.
- Lopes Mario, Medeiros J. Laurentys, Semiologia Médica, 3ªed, Ed Atheneu, São Paulo, P 366, 561, 861, 941-3; 1990.
- Lorenzi, Terezinha F., Manual de Hematologia – Propedêutica e Clínica, 3ªed, ed Medsi, Rio de Janeiro, P 563 e 601; 2003.
- Ferreira, A. Walter; Diagnóstico Laboratorial, 2ª ed, ed Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, P 422 e 425; 2001.
- Ville, J.P. Frejá, Manual de Exames de Laboratório, 1ª ed, Ed Atheneu, Rio de

Janeiro, P 161,164,166,168-9, 172-3,175 e 184; 2001.

Moura, Roberto de Almeida, Técnicas de Laboratório, 3ª ed, ed Atheneu, Rio de Janeiro, P 317; 2006.

Guimarães, Rubens Xavier; Clínica e Laboratório, 1ª ed, ed Sarvier, Rio de Janeiro, P 107; 1976.

MD Walach, Jacques; Interpretação de Exames Laboratoriais, 7ª ed, ed Medsi, Rio de Janeiro, P 159, 266, 336, 475, 475, 767, 830 e 934; 2003.

Henry, John Bernard; Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais, 18ª ed, ed Manole, São Paulo, P 1034-9, 976-7, 1041, 1050-2, 1048, 872, 419-0; 2004.

MD Richard, Ravel; Laboratório Clínico, 6ª ed, ed Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, P 143,203-4,330-1,333,327-9; 1997.

M.D. Guyton, Arthur C; Tratado de Fisiologia Médica, 8ª ed, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, P 234-5, 1992.

2º Consenso Brasileiro de FAN HEP 2, 2003.

Reagentes Diasorin, Informativo Técnico de bula, 2009.

Reagentes Biomerieux,, Informativo Técnico de bula, 2009.

Reagentes Wama, Informativo Técnico de bula, 2009.

SURITA, Fernanda Garanhani de Castro; FEBRASGO gestão 1993-7

Tony Madureira, Disponível em <http://gineco.amerhuec.org.br/html/lupus-eritematoso-sistêmico-e-.html> em 25/7/2009.

Furtado,Rita; Keiserman, Mauro W., Disponível em : <http://www.abcsaude.com.br/artigo.php>. acesso em 18/7/2009 as 23:56 horas.

Ballone,G.J., Psiquiatria Geral, Disponível em: <http://gballone.sites.uol.com.br/psicossomática/lupus.html> em 18/7/2009 as 23:57horas.

David Chelmow, MD, Obstetrics & Gynecology, Tufts University School of Medicine <http://emedicine.medscape.com/article/1146454-overview> em 25/7/2009

Michael D. Lockshin, M.D., Disponível em <http://www.geocities.com/js-source/adframe07.html> em 25/7/2009

Francisca Leal, Disponível em http://tonymadureira.blogspot.com/2008_09_01_archive.html em 27/7/2009

Michelle Petri, M.D, Disponível em <http://emedix.uol.com.br/not/not2003/03jan10reu-aar-ctm-lupus.php> em 27/7/2009

Elliot Chartash, M.D. <http://lupus.realmsn.com/notcias-f38/doenas-cardiopulmonares-e-o-lpus-t132.htm>, cardiologia em 27/7/2009

Kopersztych, Samuel <http://drauziovarella.ig.com.br/entrevistas/lupus.asp> em 27/7/2009.