

A técnica de elisa e a sua importância para o diagnóstico clínico

The elisa technique and its importance for clinical diagnosis

DOI:10.34117/bjdv7n9-243

Recebimento dos originais: 07/08/2021

Aceitação para publicação: 01/09/2021

Victor Luiz de Matos Franco

Médico pela Universidade Federal de Ouro Preto
R3 Ginecologia e obstetricia no Hospital Santa Casa de Belo horizonte.
Endereço: praça hugo werneck, 537, aptp 503, santa efigencia, belo horizonte

Larissa de Oliveira Cassini Marques

Ensino médio completo/ ensino superior incompleto- acadêmica de medicina
Instituição: Faminas BH
Endereço: Av. Raja Gabaglia, 40. Ap. 33. Bairro- gutierrez. Cep- 30441-070
E-mail: lalacassini@yahoo.com.br

Sérgio Gabriel Soares Diniz

Ensino superior incompleto - Acadêmico Medicina da Universidade de Itaúna
Universidade de Itaúna
Endereço: Rua Estrela do Oeste , 40 , Centro , Curvelo - MG , 35790-387
E-mail: sergiodinizz@outlook.com

Vanessa Israel de Souza Assunção

Ensino superior incompleto
Acadêmica de medicina da Faculdade de Medicina de Barbacena
Endereço: Avenida Sete de Setembro, 1047 apto 201, Centro. Divinópolis, Minas Gerais. CEP: 35500-011
E-mail: vanessaisraels@gmail.com

Ana Bárbara Lessa Nogueira

Ensino Superior Incompleto (acadêmica de medicina)
Instituição: Faminas Bh
Endereço: av raja gabaglia 40 apt 33 Gutierrez, Belo Horizonte
E-mail: anablnogueira15@gmail.com

Jaslana Cristina Braga Bragagnolo

Acadêmico do 12º período de Medicina
Instituição: universidade Estácio de sa- rj campus presidente Vargas
Endereço: avenida nossa senhora de Copacabana 30, leme- rj
E-mail: jaslanabragagnolo@gmail.com

Anna Flávia Barros Barezani

9 período de Medicina
Faminas bh
Endereço: Rua serpentina 23, Carlos Prates. BH, MG.
E-mail: flavinharezani.19@gmail.com

Marco Júnio Arantes Paim

Ensino superior incompleto – Academico de medicina
Faculdade de Itaúna
Endereço: Av. Ramiro correia 510 Formiga-mg
E-mail: junioap1@hotmail.com

RESUMO

INTRUDUÇÃO: O teste de ELISA (Enzyme linked immuno Sorbent Assay) é amplamente utilizado para realizar diagnóstico de doenças autoimunes bem como infecciosas e alérgicas. Isso porque, a fisiopatologia das causas supracitadas desencadeiam a produção de imunoglobulinas que é a base do teste. Dessa forma, esse método possibilita tanto a identificação de antígenos, quanto a de anticorpos específicos no plasma sanguíneo. Por apresentar baixo custo e alta especificidade e sensibilidade esse método tornou-se imprescindível para um bom diagnóstico como por exemplo na atual pandemia do Corona vírus. **OBJETIVO:** O objetivo do presente estudo é abordar os tipos de técnicas do método ELISA existentes bem como a sua importância para realizar o diagnóstico clínico no cotidiano médico. **MÉTODO:** Foi realizada uma revisão da literatura nas bases de dados Scielo e Pubmed com o uso dos descritores ELISA AND impact AND clinical diagnosis. Foi usado como critério de inclusão artigos do ano superior a dez 2019 e de exclusão aqueles que não exemplificavam as técnicas do ELISA ou não deixavam claro sua importância para o diagnóstico. **RESULTADO:** As principais variantes do teste contam com diferentes formas na identificação do antígeno e do anticorpo, além disso, contam com o aumento da sensibilidade e da especificidade o que torna ainda melhor os resultados obtidos. No cotidiano médico esse teste pode ser aplicado em diversas situações como teste de gravidez pela detecção do BHCG, como na doença de chagas, candidíase entre outras. **CONCLUSÃO:** O teste de ELISA é de grande importância no cotidiano médico por oferecer um auxílio no diagnóstico de patologias com alta especificidade e sensibilidade aliada a um baixo custo. Existe inúmeras patologias que podem ser diagnosticadas através desse método dessa forma é fundamental o conhecimento das técnicas bem como a interpretação do resultado oferecido.

Palavras-Chave:“ELISA” AND “impact” AND “Clinical Diagnosis”.

ABSTRACT

INTRUDUCTION: The ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) test is widely used to perform diagnosis of autoimmune as well as infectious and allergic diseases. This is because the pathophysiology of the above causes triggers the production of immunoglobulins which is the basis of the test. Thus, this method enables the identification of both antigens and specific antibodies in the blood plasma. Because of its low cost and high specificity and sensitivity, this method has become indispensable for a good diagnosis, as for example in the current pandemic of the Corona virus. **OBJECTIVE:** The aim of this study is to discuss the types of ELISA techniques available, as well as their importance for clinical diagnosis in daily medical practice. **METHODS:** A literature review was carried out in Scielo and Pubmed databases using the descriptors ELISA AND impact AND clinical diagnosis. We used as inclusion criteria articles from the year above Dec 2019 and exclusion criteria those that did not exemplify the ELISA techniques or did not make clear its importance for diagnosis. **RESULT:** The main variants of the test have different ways of identifying the antigen and antibody, in addition, they have increased sensitivity and specificity, which makes the results even better. In everyday medical life this test can be applied in various situations such as pregnancy test through the detection

of BHCG, as in chagas disease, candidiasis and others. **CONCLUSION:** The ELISA test is of great importance in everyday medical life because it offers help in the diagnosis of pathologies with high specificity and sensitivity allied to a low cost. There are numerous pathologies that can be diagnosed by this method, so it is essential to know the techniques as well as the interpretation of the results offered.

Keywords: "ELISA" AND "impact" AND "Clinical Diagnosis".

1 INTRODUÇÃO

O teste de ELISA foi um grande marco para os testes de imunodeteção. Isso porque, antes da sua descoberta, o paciente era exposto a marcadores radioativos o que expunha o paciente a riscos para sua saúde. Foi em 1971 que Peter Perlmann e Eva Engvall publicaram seus conhecimentos e consolidaram a técnica ELSA. (1) O método tem como base a interação entre antígeno-anticorpo, que realiza uma ligação específica seja ela diretamente ou indiretamente. Quando a enzima realiza a interação com o substrato, há uma mudança na coloração e essa é usada como marcador para a interpretação do resultado. A base do teste anteriormente descrita pode ser realizada com pequenas modificações no processo e assim obtemos outras 4 principais técnicas: ELISA direto, ELISA indireto, ELISA sanduiche e ELISA por competição. Essas variações possibilitam, a depender da sua finalidade, aumentar a sensibilidade, a variedade de anticorpos e amplificação do sinal, dessa forma sendo utilizado nas mais diversas situações (2). Atualmente, a grande aplicabilidade do ELISA se refere aos diagnósticos de doenças reumatológicas, HIV, Hepatites bem como identificar a concentração de substâncias na urina como drogas ilícitas e beta HCG. No atual cenário de pandemia do COVID 19 o ELISA também vem sendo usado para identificação dos anticorpos, possibilitando a informação de que o paciente está com a doença em atividade ou se já teve, gerando um impacto positivo na ajuda para controle. Desse modo, é possível observar o amplo espectro de utilidades para esse teste e sua aplicabilidade no diagnóstico de diversas doenças.

2 METODOLOGIA

O artigo em questão se trata de uma revisão da literatura acerca da importância do ELISA para o diagnóstico clínico. Para a atual pesquisa, foi realizada uma busca no dia 24 de fevereiro de 2021 nas bases de dados PubMed e Scielo com os seguintes marcadores: ((ELISA) AND (impact)) AND (clinical diagnosis). Foram obtidos 7.259,

424 e 44 artigos respectivamente. Foi realizada uma nova exclusão para aqueles artigos publicados posterior a 2020 finalizando a amostra em 22 artigos e uma leitura acerca do resumo e conclusão de todos os artigos pré-selecionados. Foi usado como critério de inclusão aqueles que abordavam as vantagens da técnica para diagnóstico clínico, bem como aqueles que exemplificavam os tipos de ensaios e sua utilização na medicina. Dessa forma, a amostra final contou com 6 principais artigos que foram usados para embasar o conteúdo deste artigo.

3 RESULTADOS

Como anteriormente descrito, o teste de ELISA tem 4 principais variações. O mais simples dele é o elisa direto que consiste na impregnação do antígeno na placa e em seguida com uma pipeta, introduz um anticorpo ligado a uma enzima e um substrato cromogênico que vai dar coloração a esse conjunto. Atualmente, máquinas específicas realizam a leitura qualitativa e quantitativa para a variação de cor. Sendo assim, o ELISA direto utiliza apenas um anticorpo primário que marca o antígeno diretamente. Essa técnica é amplamente utilizada nos testes de gravidez para a detecção da gonadotrofina coriônica humana (BHCG). O laboratório Laborclin evidenciou as limitações do teste que consiste: Quando há altas concentrações de BHCG, a partir do segundo mês de gestação, pode ocorrer erros, dessa forma a amostra deve ser diluída para resultados mais preciso. O consumo de drogas pode realizar uma reação cruzada e favorecer a resultados falso-positivos, assim como nos casos de aborto no qual os níveis de BHCG podem se manter elevados por algum tempo. (3)

Imagem 1: Exemplificação do ELISA direto.



Fonte: <http://biomedicinabrasil.com.br/metodologia/teste-de-elisa/>

A segunda técnica consiste no ELISA indireto. Esse utiliza de dois anticorpos, o primário e o secundário. Uma amostra é preparada com o anticorpo primário na qual tem

afinidade para o antígeno que vai ser detectado. Dessa forma, ao introduzir o antígeno esse se ligará ao seu alvo, o anticorpo primário. É realizada uma lavagem para retirada daqueles que não tiveram afinidade e logo não realizaram a ligação. Nesse momento o anticorpo secundário é introduzido e ele se ligará aos anticorpos primários. Isso permite um aumento da especificidade do teste. No cotidiano esse teste é muito usado para as doenças infecto contagiosas como a doença de chagas, doença na qual é fundamental o diagnóstico precoce com a finalidade de evitar complicações. Durante a realização do teste, medidas devem ser tomadas para garantir a qualidade do resultado. Sendo assim o armazenamento adequado principalmente o substrato, que deve ser mantido em lugar privado de luz para evitar a fotodecomposição, deve ser realizado a manutenção periódica dos equipamentos de lavagem para evitar acúmulos químicos (4)

Imagem 2: Exemplificação do ELISA indireto.



Fonte: <http://biomedicinabrasil.com.br/metodologia/teste-de-elisa/>

O método sanduíche consiste primeiramente na ligação dos anticorpos de captura na placa de teste. Em seguida se introduz a amostra a ser analisada, os antígenos específicos a serem detectados se ligam aos anticorpos de captura. Uma lavagem é realizada com a finalidade de retirar os não ligantes. Posteriormente, os anticorpos conjugados a enzima são adicionados que irão reconhecer a presença do antígeno. Novamente, outra lavagem é realizada e por fim é adicionado o substrato para coloração da amostra. Esse método é um dos mais eficazes pois há um aumento da especificidade das ligações. Na prática médica um dos grandes exemplos que utilizam do ELISA sanduíche é o teste para detecção do HIV, que é chamado de teste de terceira geração. (5)

Imagem 3: Exemplificação do ELISA sanduiche.



Fonte: <http://biomedicinabrasil.com.br/metodologia/teste-de-elisa/>

Já o ELISA de inibição é uma reação na qual o antígeno marcado compete pelos sítios de ligação do anticorpo primário com o antígeno da amostra. Quanto menos antígeno na amostra, mais o antígeno marcado é retido no poço e mais forte é o sinal. Nesse formato, junto com a amostra é adicionado antígeno semelhante ao que se procura nela, mas com o marcador. Ambos irão competir pelos anticorpos de captura. Uma lavagem é realizada, se após a lavagem o sinal estiver reduzindo, indica que os antígenos procurados se ligaram comprovando a sua presença. Um estudo da UNIFESP tem demonstrado que esse método tem sido utilizado para identificação da candidíase nasocomial que é uma grande preocupação em hospitais terciários em todo o mundo. A grande vantagem demonstrada e no curto tempo em que há a possibilidade de detecção, dessa forma, é possível entrar com o esquema de antibiótico mais precocemente impedindo que haja evolução do fungo e complicações associadas. (6)

Imagem 4: Exemplificação do ELISA competitivo.



Fonte: <http://biomedicinabrasil.com.br/metodologia/teste-de-elisa/>

4 DISCUSSÃO

O teste ELISA é um método amplamente utilizado na prática médica, isso porque ele pode ser utilizado em diversas situações. Após a revisão da literatura foi possível evidenciar as principais vantagens. A alta sensibilidade em detectar concentrações mínimas de antígeno ou anticorpos tem o benefício de oferecer menos risco de falso negativo. Dessa forma, quando negativo, tem-se a maior certeza de que a substância que foi buscada está ausente. Outro ponto relevante é a alta especificidade, que indica que o teste só irá identificar os anticorpos e antígenos desejado. Essa característica oferece um menor risco de falso positivo. Essas duas características associadas oferece uma grande segurança diagnóstica e compõe uma das principais vantagens no uso do método. Outro benefício associado a técnica é a simplicidade da técnica e a possibilidade de ser reproduzida com facilidade em qualquer local, além disso o baixo custo em comparação as outras técnicas também faz do ELISA uma das principais escolhas.

Apesar de possuir inúmeras vantagens, o teste conta com a necessidade de uma mão de obra especializada e conhecimento acerca dos produtos, isso porque, alguns reagentes podem degradar-se com facilidade a exposição solar ou elevadas temperaturas. Ainda relacionado a necessidade de um treinamento técnico, o teste é muito susceptível a erros de pipetagem, variações no tempo de incubação e lavagens. Sendo assim, é imprescindível um treinamento rigoroso e extrema atenção na hora da realização do mesmo.

Mesmo evidenciando os cuidados necessários, é possível perceber que o teste ELISA e suas variações estão muito presentes no cotidiano medico para diagnóstico, desde atividades mais simples como a identificação de um teste de gravidez, até casos mais complexos como candidíase nasocomial. Na revisão da bibliografia também ficou evidenciado que as variações dos testes acabam por aumentar ainda mais a sua sensibilidade e especificidade, atualmente, o teste do ELISA direto tem perdido o espaço para outras variações por fornecer um resultado mais específico.

5 CONCLUSÃO

O teste de ELISA é de grande importância no cotidiano médico por oferecer um auxílio no diagnóstico com alta especificidade e sensibilidade aliada a um baixo custo. Apesar de necessitar de um técnico especializado, a simplicidade do método aliado à facilidade de acesso faz do ELISA um grande aliado no momento diagnóstico. Sendo

assim, é fundamental que o corpo médico tenha conhecimento do mesmo e que saiba como interpretar os resultados.

REFERÊNCIAS

- (1) ELISA - Enzimaimunoensaio [Internet]. Web site UFSM; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: <http://jararaca.ufsm.br/websites/imunologia/7aaf5b0de6bacb0bf37696ee29afd9d0.htm>
- (2) TESTE DE ELISA [Internet]. Web site UFRGS; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: <https://www.ufrgs.br/labvir/material/aulap10.pdf>
- (3) GCH ELISA [Internet]. ANIVSA; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/GCH_ELISA_09012019.pdf
- (4) Doença de Chagas: triagem e testes sorológicos [Internet]. Ministério da saude; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd07_08.pdf
- (5) Diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV [Internet]. Ministério da saude; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: https://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22167/mod_resource/content/1/HIV%20-%20Manual%20Aula%205.pdf
- (6) Detecção de antígeno circulante nas candidemias: diagnóstico de candidemia em pacientes de UTI através da técnica de ELISA de inibição [Internet]. Ministério da saude; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: <http://repositorio.unifesp.br/handle/11600/9320>
- (7) TESTE ELISA [Internet]. Ministério da saude; 2020 [cited 2021 Feb 27]. Available from: <Http://biomedicinabrasil.com.br/metodologia/teste-de-elisa/>.