

Características dos métodos de diagnóstico



Profa. Dra. Trícia Maria Ferreira de Sousa Oliveira

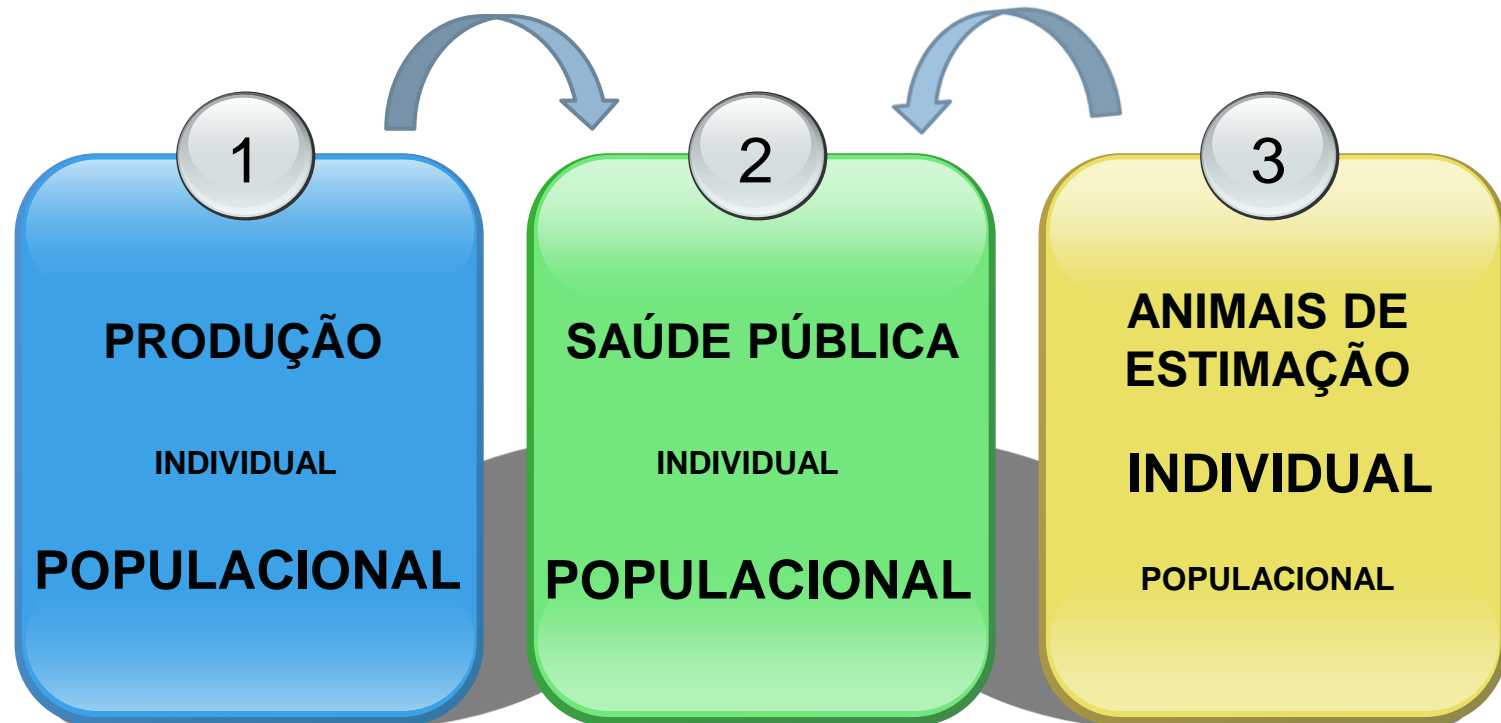
INTRODUÇÃO

- ❖ Diagnóstico: todo recurso utilizado para identificar uma fonte de infecção.
- ❖ Necessidade da correta identificação do agente causal:
 - ❖ ocorrência
 - ❖ prevenção
 - ❖ tratamento
 - ❖ estimativa de prejuízos
 - ❖ comércio nacional e internacional

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- ❖ Fatores que condicionam a qualidade de um procedimento diagnóstico:
 - ❖ Amostra: qual material, de quais espécies.
 - ❖ Método de colheita: quanto material, de que forma, esterilidade.
 - ❖ Conservação e transporte: tempo e modo.
 - ❖ Teste: escolha dos reagentes, aplicação da técnica (instrumentos, locais e pessoal), leitura dos resultados.
 - ❖ Resultado: modalidade de expressão, interpretação.

FOCO DO DIAGNÓSTICO



TIPOS DE DIAGNÓSTICO

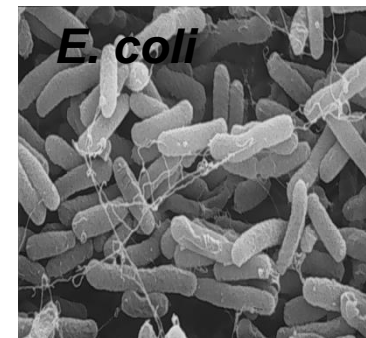
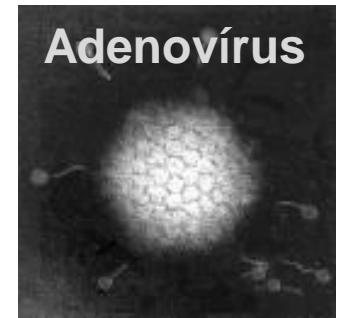
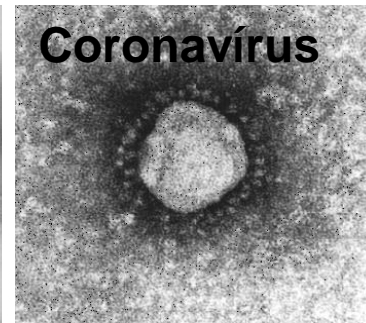
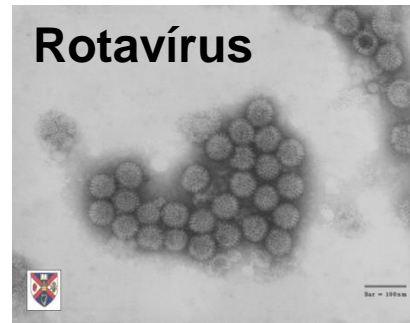
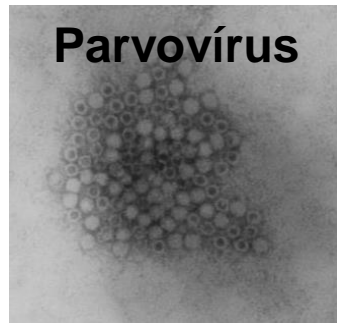
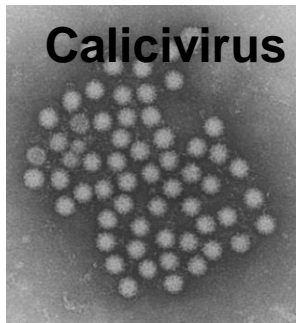
- ❖ **Clínico:** baseado nos sinais e sintomas, possuem $>$ ou $<$ restrição, dependendo da exteriorização dos sinais; mais seguro em quadros típicos (patognomônicos).
- ❖ **Epidemiológico:** feito através de evidências circunstanciais.
- ❖ **Laboratorial:** lança mão de métodos específicos que por si só permitem identificar o indivíduo doente; ou então fornecem informações adicionais que auxiliam a identificação do indivíduo doente.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

- ❖ Obtenção de informações relativas à identificação da doença e ao correspondente tratamento, objetivando a recuperação do indivíduo doente.
- ❖ Série de procedimentos – métodos de exploração clínica (semiologia).
- ❖ Sinais clínicos – diagnóstico de suspeita.
- ❖ Confirmação – diagnóstico laboratorial.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

❖ Subjetividade?



❖ Mesmos sinais clínicos!

DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

- ❖ Estabelecer o perfil epidemiológico da população e das características ambientais, ou seja, a análise da situação existente a fim de permitir ou embasar a escolha de prioridades e a tomada de decisões relativas à correspondente profilaxia.
- ❖ Tipos mais frequentes:
 - ❖ Inquérito epidemiológico: estudo de situações específicas relativas a uma doença numa comunidade;
 - ❖ Vigilância epidemiológica: estabelecer elementos para apreciação ativa do processo saúde-doença;

DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

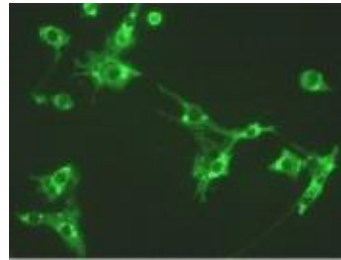
- ❖ Padrões e as probabilidades de ocorrência dos eventos morte e doença na população.
- ❖ Características ambientais:
 - ❖ Natureza do solo
 - ❖ Existência de reservatórios e vetores
 - ❖ Disponibilidade de água e alimento
 - ❖ Condições de componente sócio-econômico-cultural

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

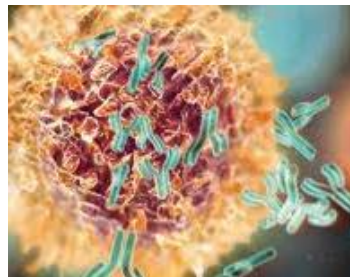
- ❖ Variados procedimentos derivados de diferentes disciplinas: patologia, microbiologia, parasitologia, radiologia, entre outros...
- ❖ Testes laboratoriais: procedimento para detectar um elemento em análise (analito)
 - ❖ Substância: hormônios, antibióticos, enzimas
 - ❖ Agentes infecto-parasitários
 - ❖ Alterações teciduais
 - ❖ Respostas: imunológica, fisiológica

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

- ❖ **Métodos laboratoriais diretos:** quando visam reconhecer a presença do agente etiológico no organismo do hospedeiro.



- ❖ **Métodos laboratoriais indiretos:** quando visam constatar indiretamente a presença do agente etiológico, buscando a resposta imune do hospedeiro.



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

**MÉTODOS
DIRETOS**

**PRESENÇA
DO AGENTE**

**Morfologia, Bioquímica,
Antigenicidade,
Atividade biológica**
Ácido nucléico

**MÉTODOS
INDIRETOS**

**PRESENÇA
DE
RESPOSTA IMUNE**

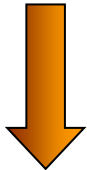
HUMORAL
SORODIAGNÓSTICO
Ex: Reações sorológicas

CELULAR
ALERGODIAGNÓSTICO
Ex: Tuberculinização

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

**MÉTODOS
DIRETOS**

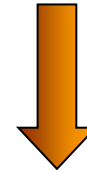
**PRESENÇA
DO AGENTE**



**Características Fenotípicas
Características Genotípicas**

**MÉTODOS
INDIRETOS**

**PRESENÇA
DE
RESPOSTA IMUNE**



**Características Fenotípicas
(Antigênicas)**

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Métodos Qualitativos

Presença ou ausência
de uma característica

Dicotômicos

Presença de ovos de
parasitas nas fezes
sinal clínico

reação de hipersensibilidade
em testes cutâneos

Prenhez

isolamento viral

Métodos Quantitativos

Quantificação de algum
valor numérico

Contínuos

contagem de hemácias e
leucócitos, dosagens
(glicose, colesterol, ureia,
creatinina)

Descontínuos

título viral (10^2 , 10^4 ,
 10^8 ,...)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

❖ Características dos métodos quantitativos:

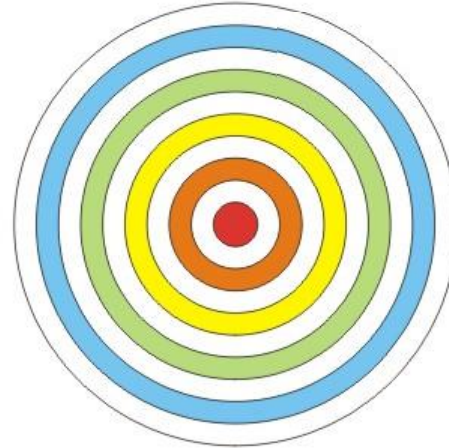
- ❖ **Exatidão** ou **Acurácia**: capacidade do teste de proporcionar resultados que quando repetidos se aproximam do valor verdadeiro.
- ❖ **Precisão**: capacidade do teste de proporcionar resultados que quando repetidos estão próximos entre si, mesmo que estejam distantes do valor verdadeiro.
- ❖ Relacionados ao controle de qualidade dentro do laboratório.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

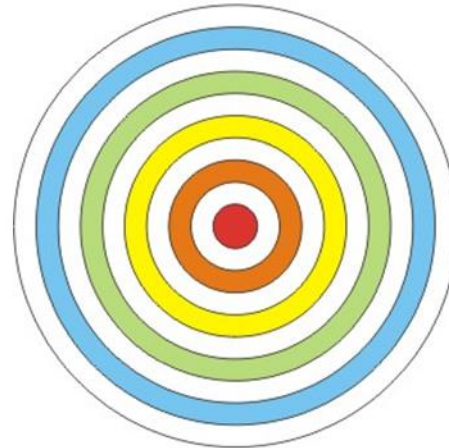
Alta acurácia
Alta precisão



Baixa acurácia
Alta precisão



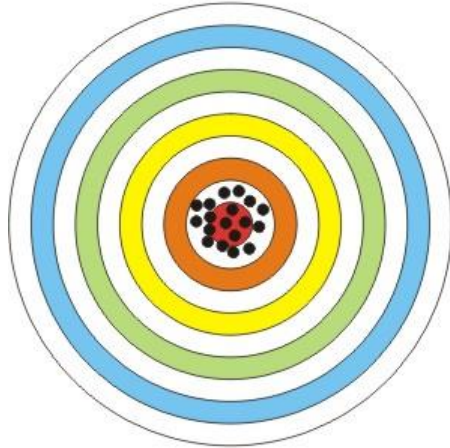
Alta acurácia
Baixa precisão



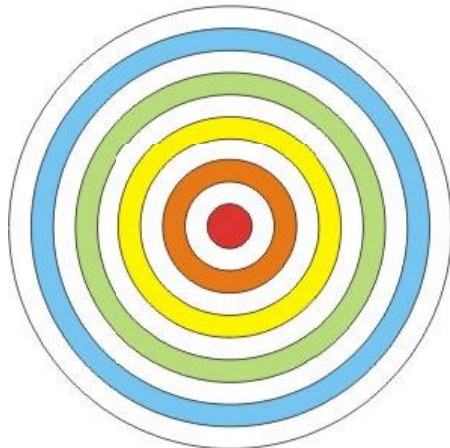
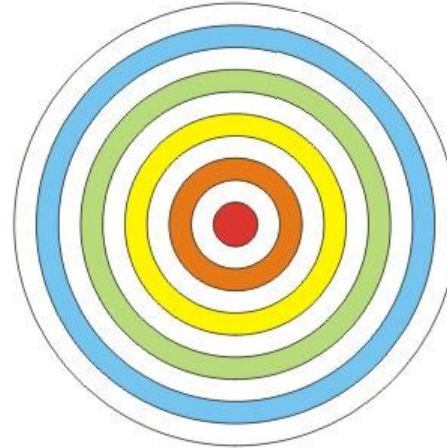
Baixa acurácia
Baixa precisão

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

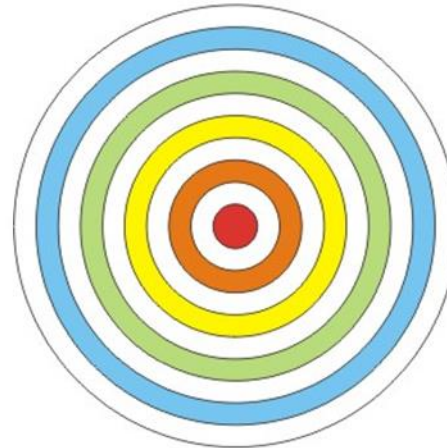
Alta acurácia
Alta precisão



Baixa acurácia
Alta precisão



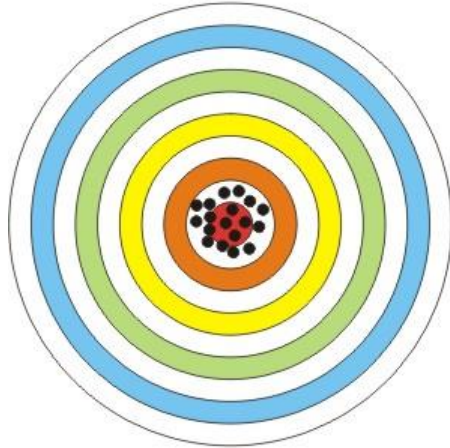
Alta acurácia
Baixa precisão



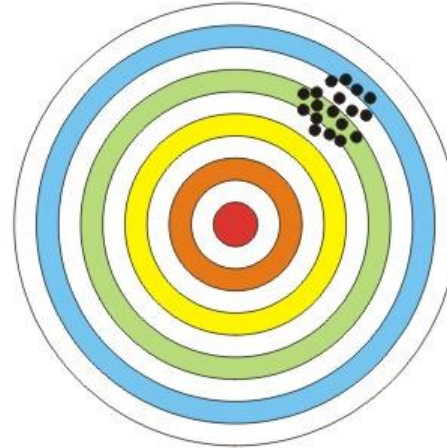
Baixa acurácia
Baixa precisão

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

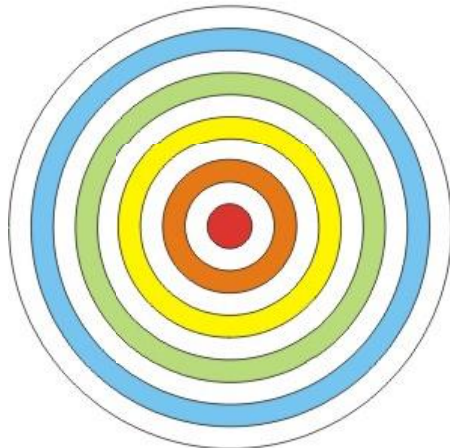
Alta acurácia
Alta precisão



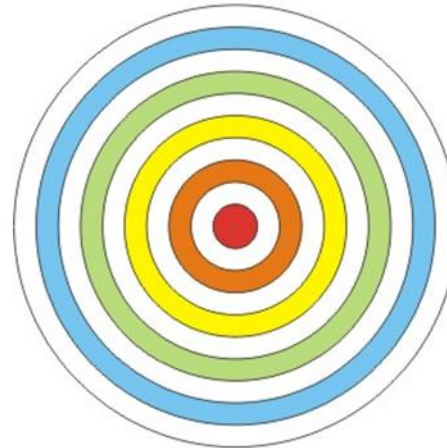
Baixa acurácia
Alta precisão



Alta acurácia
Baixa precisão

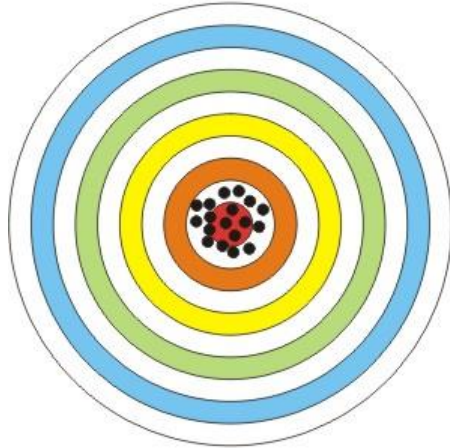


Baixa acurácia
Baixa precisão

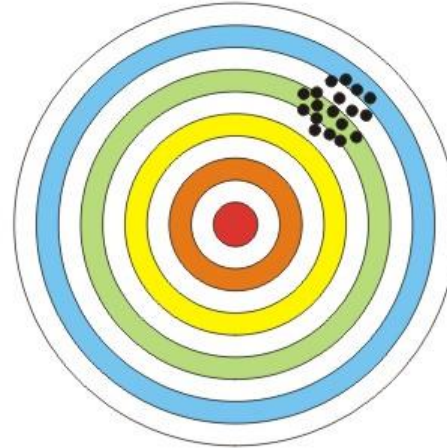


DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

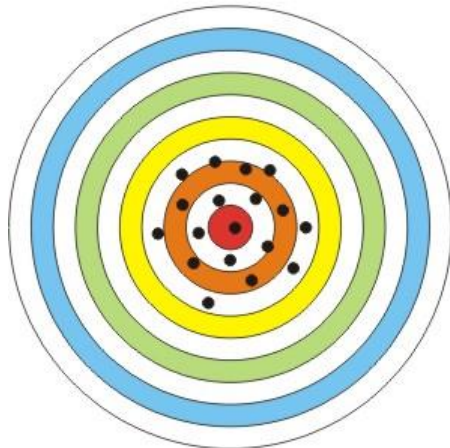
Alta acurácia
Alta precisão



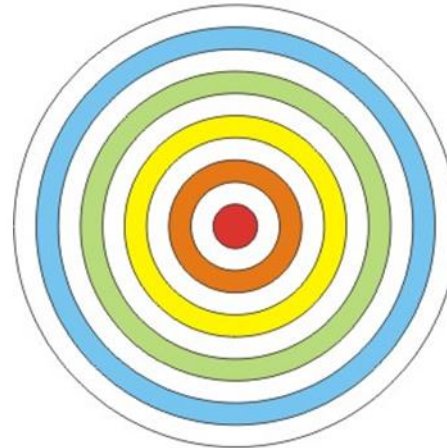
Baixa acurácia
Alta precisão



Alta acurácia
Baixa precisão

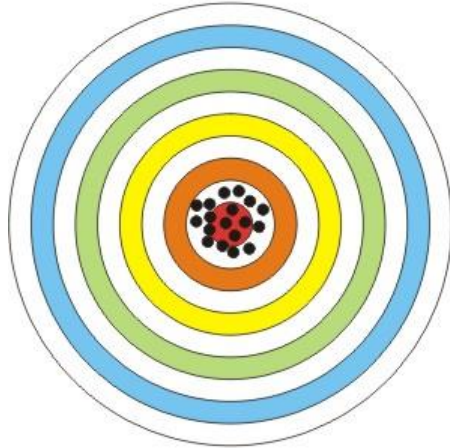


Baixa acurácia
Baixa precisão

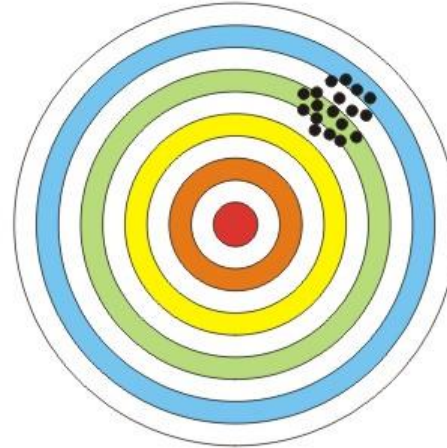


DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

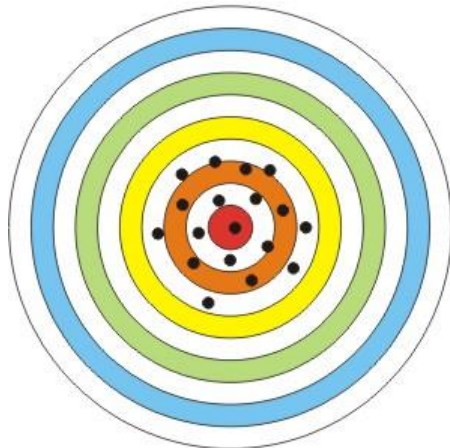
Alta acurácia
Alta precisão



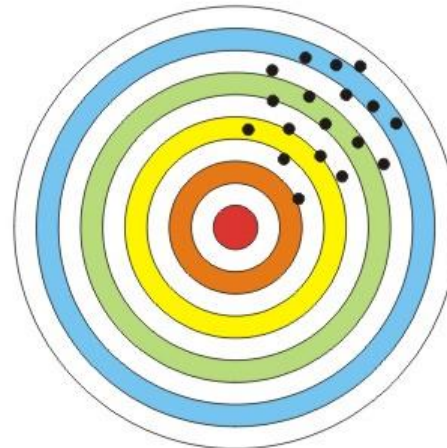
Baixa acurácia
Alta precisão



Alta acurácia
Baixa precisão



Baixa acurácia
Baixa precisão



MÉTODOS LABORATORIAIS

- ❖ **Sorologia:** estudo científico do soro sanguíneo, ramo da biologia que estuda os antígenos, os anticorpos e suas interações.
- ❖ **Reação sorológica:** artifício laboratorial para demonstrar a reação antígeno X anticorpo.

IDENTIFICAÇÃO SOROLÓGICA

AGENTE



?



SORO PADRÃO
CONHECIDO!

SORODIAGNÓSTICO

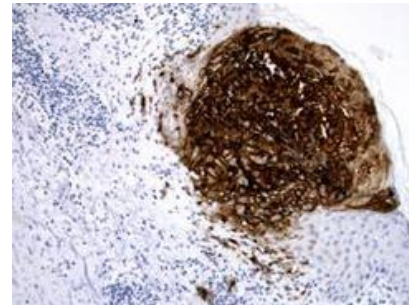
ANTÍGENO
PADRÃO
CONHECIDO!



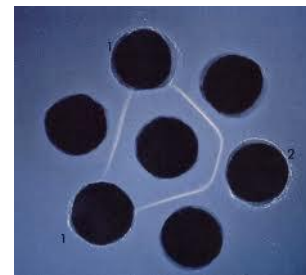
SORO
SUSPEITO

MÉTODOS LABORATORIAIS

- ❖ **Teste de ligação primária:** permite detectar diretamente a reação Ag-Ac.



- ❖ **Teste de ligação secundária:** depende da observação de fenômenos secundários à ligação do Ag-Ac.



MÉTODOS LABORATORIAIS

❖ **Teste de ligação primária:**

- ❖ Imunofluorescência: 0,00005 µg/ml
- ❖ ELISA: 0,0005 µg/ml

❖ **Teste de ligação secundária:**

- ❖ Hemagl. Passiva: 0,01 µg/ml
- ❖ Fixação do complemento: 0,05 µg/ml
- ❖ Aglutinação de bact.: 10,05 µg/ml
- ❖ Precipitação em gel: 30,00 µg/ml

ANTÍGENOS E ANTICORPOS

Antígenos

- ❖ Natureza variável
- ❖ solúvel ou particulado
- ❖ bruto
- ❖ purificado
- ❖ recombinante
- ❖ epítopo: $12 \times 17 \times 34 \text{ \AA}$
 - ❖ 4 a 8 aa ou polissac.

Anticorpos

- ❖ molécula glicoprotéica
- ❖ sempre solúvel
- ❖ monoclonal
- ❖ policlonal
- ❖ recombinante
- ❖ parátopo

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS INDIRETOS

❖ Sinal da reação

- ❖ É a integração de impulsos elementares, ou seja, a ligação dos parátomos com seus epítomos correspondentes
- ❖ Possui natureza variável e mensurável (aglutinação, precipitação, radioatividade, fluorescência, cor, etc.)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

SINAL DA REAÇÃO

**IDENTIFICAÇÃO
GENOTÍPICA**

**IDENTIFICAÇÃO
FENOTÍPICA**

**ÁCIDOS NUCLÉICOS
(DNA / RNA)**

**MORFOLOGIA
ATIVIDADE BIOLÓGICA
ANTÍGENOS**

**Interação AN x AN
(Hibridização)**

**Interação AN x AN x Ptn
(PCR)**

Interação Ptn x Ptn

Interação Ptn x substrato

SINAL DA REAÇÃO

$$S = Se + \cancel{Si} + \cancel{R}$$

S = Sinal

Se = Sinal Específico

Si = Sinal Inespecífico

R = Ruído

SINAL DA REAÇÃO

Sinal

SE

Sinal Específico

É a integração de impulsos elementares específicos

(É imunológico)

Sem reações cruzadas

SI

Sinal Inespecífico

É a integração de impulsos elementares inespecíficos

(É imunológico)

Com reações cruzadas

R

Ruído

É a integração de impulsos não elementares

(Não é imunológico)

(Não é fruto de reações antígeno x anticorpo)

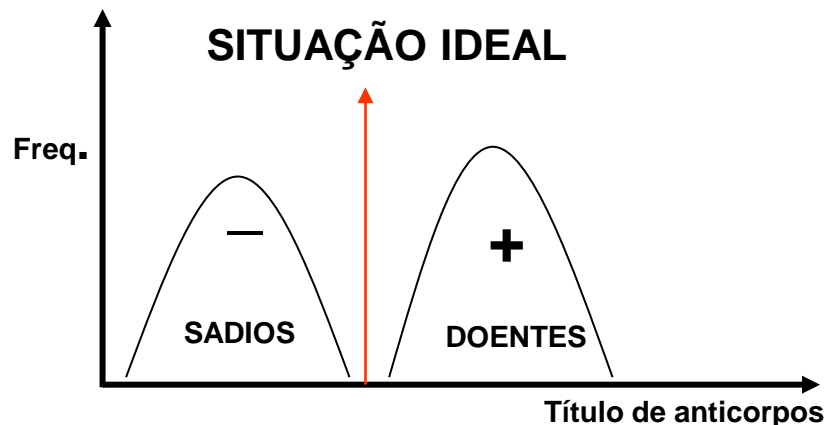
SINAL DA REAÇÃO

POSITIVO

- ❖ doente
- ❖ infectado
- ❖ alterado
- ❖ inadequado

NEGATIVO

- ❖ sadio
- ❖ não-infectado
- ❖ não-alterado
- ❖ adequado



SINAL DA REAÇÃO

POSITIVO

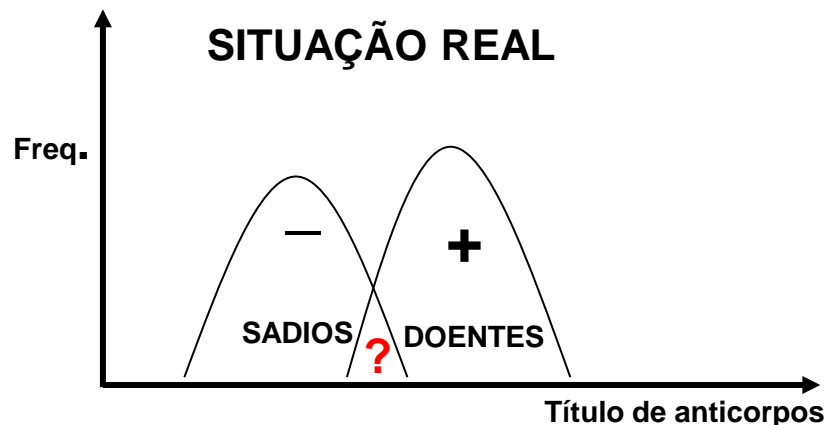
- ❖ doente
- ❖ infectado
- ❖ alterado
- ❖ inadequado

SUSPEITO



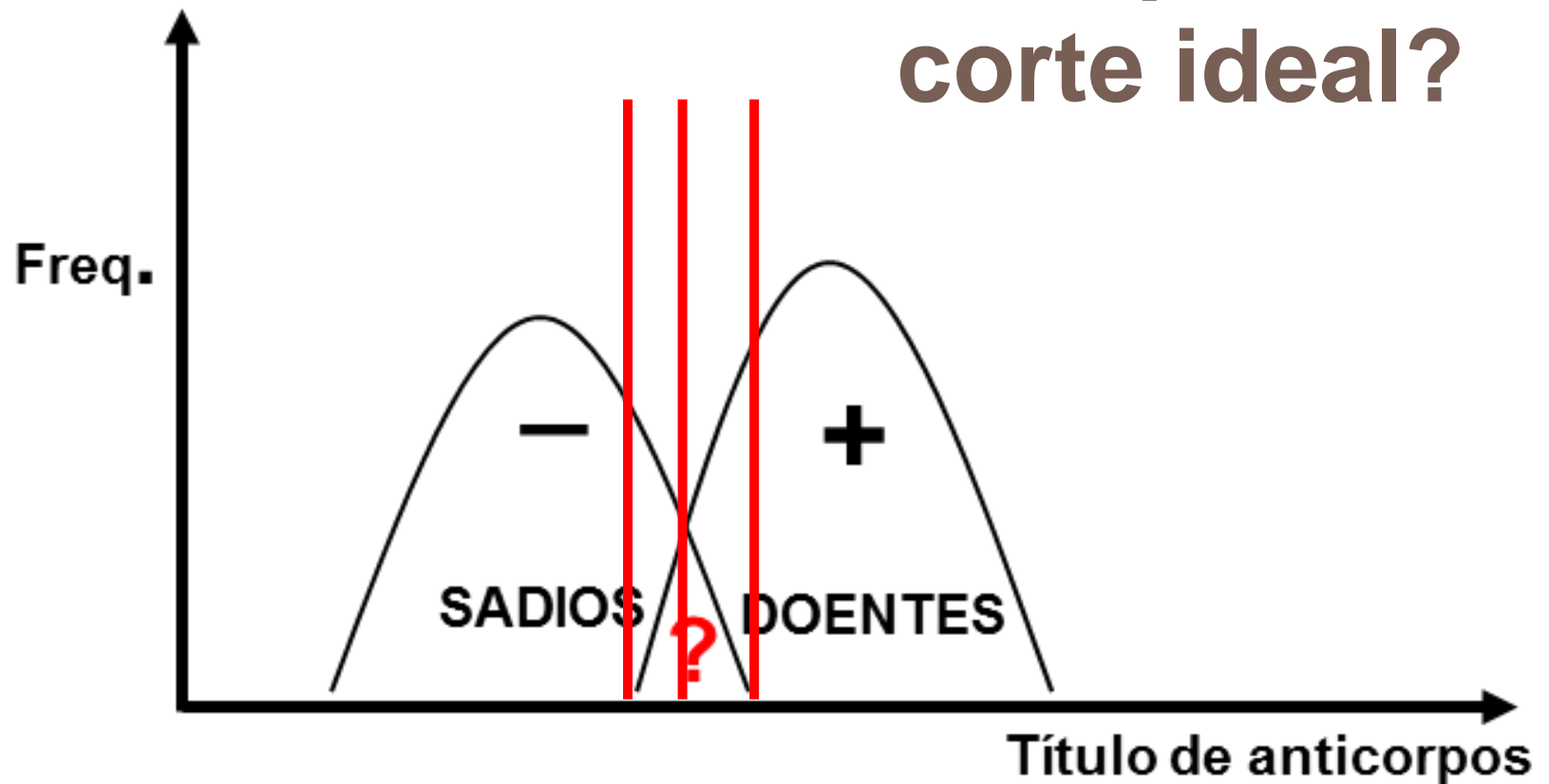
NEGATIVO

- ❖ sadio
- ❖ não-infectado
- ❖ não-alterado
- ❖ adequado



Métodos Diagnósticos

Qual é ponto de corte ideal?



CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

- ❖ **Para avaliar a sua confiabilidade:**
 - ❖ Sensibilidade (analítica e diagnóstica)
 - ❖ Especificidade (analítica e diagnóstica)
 - ❖ Valor preditivo positivo
 - ❖ Valor preditivo negativo

CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

- ❖ Baseadas em quadro que leva em consideração:
 - ❖ Condição verdadeira: infectado X não-infectado
 - ❖ Resultado do teste: positivo X negativo

Resultado do teste	Condição do indivíduo		Total
	Infectado	Não infectado	
Positivo	a ✓	b ✗	a+b
Negativo	c ✗	d ✓	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

Resultado do teste	Condição do indivíduo		Total
	Infectado	Não infectado	
Positivo			
Negativo			
Total			

VP = verdadeiro positivo: reflete a sensibilidade do teste

FP = falso positivo

FN = falso negativo

VN = verdadeiro negativo: reflete a especificidade

n = número total de indivíduos estudados

PREVALÊNCIA

- ❖ Prevalência verdadeira: total de infectados sobre o total de indivíduos estudados.

$$\frac{VP+FN}{n} \times 100$$

- ❖ Prevalência aparente: total de positivos no teste sobre o total de indivíduos estudados.

$$\frac{VP+FP}{n} \times 100$$

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

❖ Sensibilidade Analítica:

- ❖ Limiar de detecção

- ❖ É a menor quantidade de elementos em análise que o teste é capaz de detectar e gerar sinal

- ❖ Em geral, é feita uma diluição seriada do elemento em análise (sinal específico)

- ❖ 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, ...

- ❖ 1:1 (10^0), 1:10 (10^{-1}), 1:100 (10^{-2}), 1:1000 (10^{-3}), ...

SENSIBILIDADE DIAGNÓSTICA

❖ Sensibilidade Diagnóstica:

- ❖ É a capacidade de um teste classificar como positivo quem realmente é positivo
- ❖ É a proporção de verdadeiro positivos ao teste dentre os positivos reais
- ❖ Falta de sensibilidade = aumento de falso-negativos (é o positivo classificado erroneamente)

$$\frac{VP}{VP+FN} \times 100$$

ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

❖ **Especificidade Analítica:**

- ❖ É a capacidade do teste detectar só o elemento de análise (sinal específico) e não detectar elementos de análise semelhantes
- ❖ É a não ocorrência de reações cruzadas (sinal inespecífico)
- ❖ Difícil de se determinar...
 - ❖ Cepas padrão, sorovares, genotipos, mutações etc...

ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

❖ **Especificidade Diagnóstica:**

- ❖ Capacidade do teste fornecer um resultado negativo quando o indivíduo realmente não possui o parâmetro mensurado (não-infectado).
- ❖ É a proporção de verdadeiro negativos ao teste dentre os negativos reais.
- ❖ Falta de especificidade = aumento de falso-positivos (é o negativo classificado erroneamente)

$$\frac{VN}{VN+FP} \times 100$$

CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

❖ Causas de resultados positivos e negativos nos testes sorológicos:

❖ positivo {
❖ verdadeiro = infecção
❖ falso = vacinação, reação cruzada, ruídos, auto-aglutinação, atividade anti-complementar.

❖ negativo {
❖ verdadeiro = ausência da infecção
❖ falso = início de infecção, tolerância imunológica, material colhido nas proximidades do parto, classe de anticorpo detectado pelo teste, limiar de detecção do teste, falha no teste.

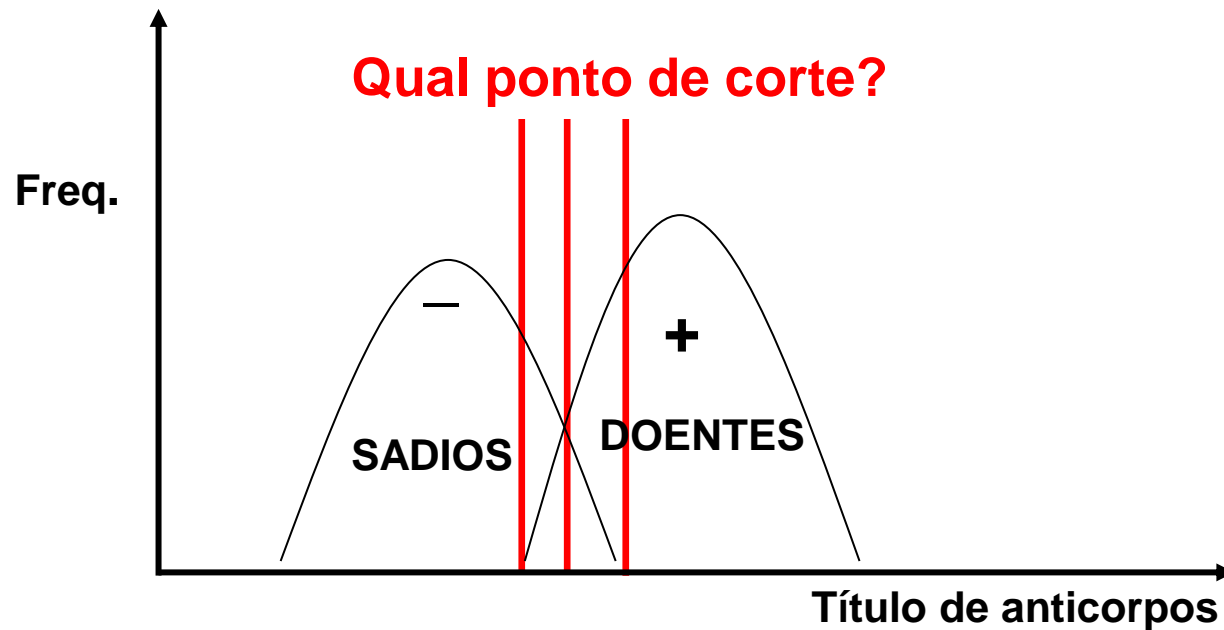
CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

- ❖ **Estimativa relativa de Sensibilidade e Especificidade**
 - ❖ relacionada com a forma de identificação da condição verdadeira.
 - ❖ a determinação da condição verdadeira é feita com base em um teste biologicamente relacionado com o teste que está sendo realizado (testes padrão, padrão ouro, gold standard).

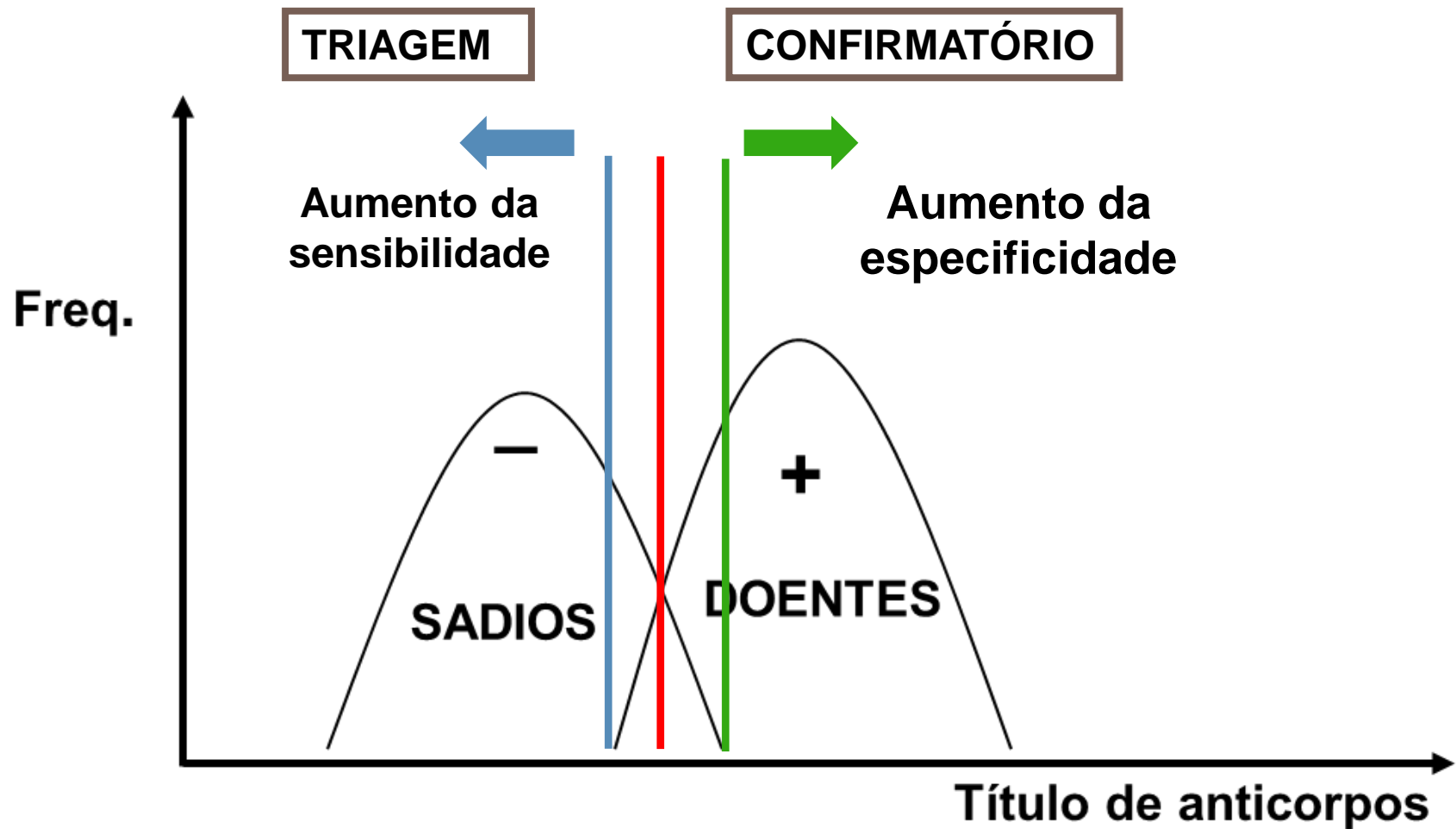
Resultado do teste	Resultado do teste padrão		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	VP	FP	VP+FP
Negativo	FN	VN	FN+VN
Total	VP+FN	FP+VN	n

CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

- ❖ Relação entre Sensibilidade e Especificidade:
 - ❖ guardam uma relação inversa entre si.
 - ❖ determinados pelo Ponto de corte ou Ponto crítico ou “Cut off”.



CARACTERÍSTICAS DOS TESTES DIAGNÓSTICOS



VALOR PREDITIVO

- ❖ **Valor Preditivo Positivo (VPP):** é a proporção de verdadeiro positivos entre os positivos ao teste (é o quanto posso acreditar no resultado positivo).

$$\frac{VP}{VP+FP} \times 100$$

- ❖ **Valor Preditivo Negativo (VPN):** é a proporção de verdadeiro negativos entre os negativos ao teste (é o quanto posso acreditar no resultado negativo).

$$\frac{VN}{VN+FN} \times 100$$

VALOR PREDITIVO

❖ **Valor Preditivo Positivo (VPP):**

- ❖ aumenta com a diminuição da sensibilidade.
- ❖ aumenta com o aumento da prevalência, para sensibilidade e especificidade diagnósticas fixas.

❖ **Valor Preditivo Negativo (VPN):**

- ❖ aumenta com a diminuição da especificidade.
- ❖ aumenta com a diminuição da prevalência, para sensibilidade e especificidade diagnósticas fixas.

ÍNDICE DE YAUDEN

- ❖ **Índice de Youden:** leva em consideração a sensibilidade e especificidade diagnósticas para determinar o “melhor” teste.
 - ❖ quanto mais próximo de 100, “melhor” é o teste.

$$S + E - 100$$

ou

$$\left(\frac{VP}{VP + FN} \times 100 \right) + \left(\frac{VN}{VN + FP} \times 100 \right) - 100$$

COEFICIENTE GLOBAL e CONCORDÂNCIA

- ❖ **Coeficiente global do teste:** reflete os resultados verdadeiros do teste em relação ao total da amostra.
 - ❖ Mede a proporção de resultados verdadeiros que o teste revela na população.
- ❖ **Taxa de concordância entre testes ou Indicador Kappa:** comparação entre dois testes.
 - ❖ validação de novos testes em relação ao teste padrão.
- ❖ quanto mais próximo de “1”, melhor.

$$\frac{VP + VN}{n}$$

INDICADOR KAPPA

Valor de kappa	Concordância
0	Pobre
0 – 0,20	Ligeira
0,21 – 0,40	Considerável
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Substancial
0,81 – 1	Excelente

INDICADOR DE CONCORDÂNCIA AJUSTADO

- ❖ **Indicador de Concordância Ajustado ou Indicador Kappa Ajustado:** descarta a concordância devida ao fator chance (acaso).
- ❖ varia de -1 a +1:
 - ❖ -1 = discordância total
 - ❖ 0 = acaso
 - ❖ +1 = concordância total

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

P_o = proporção de concordância observada (Indicador Kappa)

P_e = proporção de concordância esperada

INDICADOR DE CONCORDÂNCIA AJUSTADO

$$P_o = \left(\frac{VP+VN}{n} \right)$$

$$P_e = \left\{ \frac{\left[(VP+FP) \times (VP+FN) \right] + \left[(FN+VN) \times (FP+VN) \right]}{n^2} \right\}$$

INDICADOR DE CONCORDÂNCIA AJUSTADO

$$\left(\frac{VP+VN}{n} \right) - \left\{ \frac{\left[(VP+FP) \times (VP+FN) \right] + \left[(FN+VN) \times (FP+VN) \right]}{n^2} \right\}$$

$$1 - \left\{ \frac{\left[(VP+FP) \times (VP+FN) \right] + \left[(FN+VN) \times (FP+VN) \right]}{n^2} \right\}$$

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

❖ Outras características:

❖ Custo

❖ Praticidade

❖ Repetibilidade

❖ Reprodutibilidade

EXERCÍCIO 1

Inquérito soroepidemiológico para a detecção de imunoglobulinas de classe M (IgM) para enfermidade X em 100 indivíduos.

O diagnóstico clínico do veterinário resultou em 60% de ocorrência da enfermidade nessa população.

O diagnóstico laboratorial resultou em 90% de positividade. Dentre estes, o veterinário diagnosticou 55 doentes. Não houve erro laboratorial.

- a) Tabela 2X2, S e E, VPP e VPN do veterinário, sendo o padrão-ouro o diagnóstico laboratorial;
- b) Comentar.

EXERCÍCIO 2

Avaliação de um teste sorológico para diagnóstico de brucelose bovina em um lote A de animais infectados e um lote B de animais livres:

A = 50 animais - isolamento de *B. abortus* (48 positivos ao teste e 2 negativos ao teste).

B = 50 animais - animais livres (5 positivos ao teste e 45 negativos ao teste).

Calcular: Sensibilidade, Especificidade, VPP, VPN, Taxa de concordância entre testes, Índice Youden e Kappa Ajustado

Obrigada!!!

tricia@usp.br